

I ежегодная всероссийская молодежная конференция
по методам и приборам для анализа биологических объектов

АналитБиоПрибор-2022

Сборник тезисов докладов



8 декабря 2022 г., Санкт-Петербург

I ежегодная всероссийская молодежная конференция
по методам и приборам для анализа биологических объектов

АналитБиоПрибор-2022

Сборник тезисов докладов

8 декабря 2022 г., Санкт-Петербург

УДК 53, 57, 60, 61, 62, 68
ББК 22.3, 28, 34.9

Тезисы докладов I ежегодной всероссийской молодежной конференции по методам и приборам для анализа биологических объектов «АналитБиоПрибор-2022» / ИАП РАН, СПбПУ. СПб., 2022. 65 с.

ISBN 978-5-7629-3112-0

8 декабря 2022 г. в Санкт-Петербургском политехническом университете Петра Великого проходила I ежегодная всероссийская молодежная конференция по методам и приборам для анализа биологических объектов «АналитБиоПрибор-2022». На конференции были представлены новейшие результаты и достижения молодых ученых, которые сопровождались докладами ведущих ученых в области аналитического приборостроения. На круглом столе прошла дискуссия возможностей и перспектив применения российского оборудования для решения актуальных биологических и медицинских задач. В сборнике представлены тезисы 25 докладов участников конференции.



Публикуется в авторской редакции

Составители и технические редакторы: А. С. Букатин, В. В. Романова
Дизайн: Е. А. Кополева, А. В. Кретинина

Конференция проводится при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках проекта Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы (Соглашение № 075-15-2021-1057) и при частичной поддержке Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого за счет средств программы стратегического академического лидерства «Приоритет-2030».

Организаторы конференции

Институт аналитического приборостроения Российской академии наук
Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого

Индустриальный партнер

Научно-производственная компания ООО «Синтол»

Программный комитет

А. А. Евстапов – *председатель*, д.т.н., директор ИАП РАН

А. С. Букагин – *секретарь*, к.ф.-м.н., доцент, зам. директора по научной работе ИАП РАН

В. Е. Курочкин – д.т.н., проф., руководитель научного направления «Методы и приборы генетического анализа» ИАП РАН

Я. И. Алексеев – к.б.н., директор по науке ООО «Синтол»

П. Н. Мелентьев – к.ф.-м.н., заведующий лабораторией Института спектроскопии РАН

А. И. Петров – к.т.н., ведущий инженер ИАП РАН

А. Ю. Зайцева – к.ф.-м.н., заведующая лабораторией ИАП РАН

И. С. Мухин – д.ф.-м.н., доцент, директор Высшей инженерно-физической школы СПбПУ

А. В. Васин – д.б.н., профессор РАН, директор Института биомедицинских систем и биотехнологий СПбПУ

Организационный комитет

А. С. Букагин – *председатель*

В. В. Романова – *секретарь*

А. В. Кренинина

П. К. Афоничева

Программа конференции

9.30 – 10.00

Регистрация участников

10.00 – 10.30

Пленарный доклад

Элементная база для одномолекулярных оптических секвенаторов

Родионов Илья Анатольевич

*к.т.н., доцент, директор совместного исследовательского центра «Функциональные Микро/Наносистемы» МГТУ им. Н. Э. Баумана и ФГУП «ВНИИА им. Н. Л. Духова»
ГК «Росатом»*

10.30 – 12.00

Секция № 1

Методы высокочувствительного детектирования белков и нуклеиновых кислот

Модератор: д.т.н. А. А. Евстапов

- 10.30 – 10.45 **Разработка методики тестирования оптического детектора секвенатора ДНК**
Калмыков Алексей Сергеевич
младший научный сотрудник Института спектроскопии РАН
- 10.45 – 11.00 **Исследование ионного транспорта в твердотельных нанопорах, полученных методом электронной литографии**
Лебедев Денис Владимирович
к.ф.-м.н., старший научный сотрудник Института аналитического приборостроения РАН и Алферовского университета
- 11.00 – 11.15 **Интегральный трансивер на основе микродискового лазера и фотодетектора**
Крыжановская Наталья Владимировна
д.ф.-м.н., заведующая международной лабораторией квантовой электроники НИУ ВШЭ, заведующая кафедрой фотоники Алферовского университета
- 11.15 – 11.30 **Квадрупольный масс-спектрометр мс7-200 для анализа состава газовых смесей**
Титов Юрий Алексеевич
научный сотрудник Института аналитического приборостроения РАН
- 11.30 – 11.45 **Технология Ленгмюра для анализа биологически активных веществ**
Калниня Яна Константиновна
младший научный сотрудник Научно-клинического центра токсикологии им. акад. С. Н. Голикова ФМБА России
- 11.45 – 12.00 **Синтез металлорганических соединений в непрерывном потоке для повышенной молекулярной загрузки**
Арабули Константин Вахтангович
аспирант ИТМО

12.00 – 12.30

Кофе-брейк

12.30 – 14.10

Секция № 2

**Микрофлюидные и point-of-care устройства
для биомедицинских применений**

Модератор: к.ф.-м.н. А. С. Букатин

- 12.30 – 12.55 **Приглашенный доклад**
Аналитическая микрофлюидика биологических проб в следующем поколении измерителей живой природы
Белобров Петр Иванович
д.ф.-м.н., проф. Сибирского федерального университета
- 12.55 – 13.10 **Опыт разработки и внедрения портативных диагностических систем для выявления возбудителей инфекционных заболеваний методом изотермической амплификации на примере анализатора «Изаскрин-8»**
Басманов Дмитрий Викторович
руководитель Центра технологий и микрофабрикации ФНКЦ ФХМ ФМБА России
- 13.10 – 13.25 **Средства управления потоками жидкостей в каналах микрофлюидных приборов**
Рыжков Виталий Витальевич
научный сотрудник центра «Функциональные Микро/Наносистемы» МГТУ им. Н. Э. Баумана
- 13.25 – 13.40 **Карманный амплификатор для выявления простых мишеней**
Пауль Станислав Юрьевич
инженер-исследователь ООО «Троицкий инженерный центр»
- 13.40 – 13.55 **Point-of-care устройства на основе методов оптической тканевой оксиметрии**
Зайцева Анна Юрьевна
к.ф.-м.н., заведующий лабораторией медико-аналитических методов и приборов Института аналитического приборостроения РАН
- 13.55 – 14.10 **Микрофлюидные приборы и программное обеспечение для измерения параметров биолюминесцентных реакций**
Денисов Иван Андреевич
научный сотрудник кафедры биофизики Сибирского федерального университета

14.10 – 15.00

Обед

15.00 – 16.00

Круглый стол

**Опыт использования российского оборудования
для решения биологических и медицинских задач**

Модератор: к.б.н. Я. И. Алексеев, директор по науке ООО «Синтол»

16.00 – 17.30

Стендовая сессия + кофе-брейк

1. Методика исследования ионного транспорта в единичных твердотельных нанопорах
Ваулин Никита Васильевич
аспирант Алферовского университета
2. Исследования влияния концентрации электролита на проводимость твердотельной нанопоры
Афоничева Полина Константиновна
младший научный сотрудник Института аналитического приборостроения РАН
3. Наноструктурированные биоэлектроды. Достоинства и недостатки
Дубина Филипп Михайлович
магистрант Алферовского университета
4. Исследование микродисковых лазеров с оптически связанным волноводом
Фоминых Никита Андреевич
младший научный сотрудник НИУ ВШЭ
5. Выбор способа загрузки комплексов ДНК-полимераза в наноколодцы для одномолекулярного секвенирования в реальном времени
Ямановская Анастасия Юрьевна
инженер Института аналитического приборостроения РАН
6. Использование цифровой обработки сигналов для анализа люминесценции от ячеек ZMW одномолекулярного секвенатора ДНК
Дубовик Анна Александровна
бакалавр Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого
7. Первичный анализ данных одномолекулярного секвенатора ДНК
Сараев Алексей Сергеевич
аспирант Института аналитического приборостроения РАН
8. Оптимизация методики прямого измерения pH участков кожи
Пономарёв Никита Дмитриевич
инженер Института аналитического приборостроения РАН
9. Разработка микрофлюидной системы со встроенными пневматическими клапанами и мембранным насосом
Наумов Евгений Игоревич
магистр Алферовского университета

10. Получение и оценка жизнеспособности инкапсулированных клетками сферических микрогелей с помощью капельной микрофлюидики для 3D-биопечати
Плешаков Павел Сергеевич
аспирант Алферовского университета

11. Разработка метода электрокоалесценции для определения степени полимеризации гидрогелевых микрочастиц в микрофлюидных устройствах
Тюшкевич Андрей Андреевич
магистр Алферовского университета

12. Маломощный автокоронатор для изготовления микрофлюидных устройств
Филатов Никита Алексеевич
к.т.н., младший научный сотрудник Алферовского университета

13. Метод экспресс-оценки отклонений состава молочной продукции от заданного эталона с применением методов ИК-спектроскопии
Заневская Мария Юрьевна
бакалавр Санкт-Петербургского государственного университета аэрокосмического приборостроения

14. Исследование состава выдыхаемого воздуха с помощью масс-спектрометрического анализа
Бурлака Карина Сергеевна
бакалавр Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого

ЭЛЕМЕНТНАЯ БАЗА ДЛЯ ОДНОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ОПТИЧЕСКИХ СЕКВЕНАТОРОВ

В. В. Рыжков¹, А. А. Пищимова^{1,2}, Д. А. Баклыков^{1,2}, Т. Константинова¹, Е. С. Лотков^{1,2},
Л. Н. Муравьёва¹, Р. Ш. Алибеков¹, А. К. Кугук¹, Е. С. Краско¹, А. Р. Александров²,
А. А. Барбашева¹, И. А. Рыжиков¹ и **И. А. Родионов**^{1,2*}

¹ МГТУ им. Н. Э. Баумана, Москва, 105005, ул. 2-я Бауманская, д. 5, к. 1

² ФГУП «ВНИИА», Москва, 101000, Моспочтамт, а/я 918

* irodionov@bmstu.ru

Технологии секвенирования третьего поколения предоставляют возможность считывания длинных (более 20 000 пар оснований) молекул ДНК и сборки генома *de novo*, что позволяет с высокой точностью получить новый геном на малом количестве пробы. Одним из наиболее перспективных подходов к решению данной задачи является одномолекулярное оптическое секвенирование, в котором по спектральным характеристикам вспышек флуоресценции, возникающих при достраивании комплементарной цепочки ДНК из нуклеотидов, меченных красителем, определяется последовательность нуклеотидов. Уникальность метода заключается в возможности снижения случайной погрешности за счет многократного параллельного считывания кольцевых молекул ДНК, что позволяет достичь точности сборки 99,9 %. При этом секвенирование проводят на микрочипе с волноводами нулевой моды (ZMW), сформированными в металлической плёнке на кварцевой пластине.

В докладе представлены результаты разработки технологии изготовления микрочипов с волноводами нулевой моды. В ходе работ изготовлена партия чипов по технологии «1F» с однослойными ZMW диаметрами 75, 100, 150 нм в плёнке алюминия толщиной 100 нм на кварцевых подложках. Для увеличения эффективности загрузки длинноцепочечных молекул ДНК разработана технология «3F», в которой массив ZMW сформирован в трёхслойной структуре металл–диэлектрик–металл (МДМ). Это позволяет осуществлять активную загрузку отрицательно заряженных молекул ДНК при подаче положительного потенциала на электрод. На кварцевой пластине осажден электрод из инертного металла толщиной 10 нм, который отделён диэлектрическим слоем 30 нм от плёнки алюминия 100 нм. В работе изготовлена партия чипов по технологии «3F» с ZMW диаметром 100 нм, а также разработана реакционная ячейка для данных чипов.

Благодарности

Работа выполнена с использованием материально-технической базы ЦКП Научно-образовательного центра «Функциональные Микро/Наносистемы» МГТУ им. Н. Э. Баумана (ID 74300).

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ТЕСТИРОВАНИЯ ОПТИЧЕСКОГО ДЕТЕКТОРА СЕКВЕНАТОРА ДНК

А. Калмыков^{1*}, А. Гритченко¹, Д. Кудрявцев², Н. Ваулин^{3,4}, Д. Лебедев^{3,4}, Я. Алексеев⁵,
А. Букатин^{3,4}, В. Балыкин¹, П. Мелентьев¹

¹Институт спектроскопии РАН, 108840, Москва, Троицк, ул. Физическая, д. 5

²Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10

³Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет им. Ж. И. Алфёрова РАН, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 8, к. 3, лит. А

⁴Институт аналитического приборостроения РАН, 198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, д. 31

⁵Научно-производственная компания «Синтол», 127434, Москва, ул. Тимирязевская, д. 42, к. Б, оф. 316

*kalmikov_100@mail.ru

Оптическое одномолекулярное секвенирование ДНК в реальном времени (Single Molecule Real-Time – SMRT) [1] является современным подходом, позволяющим восстановить последовательность нуклеотидов одиночной ДНК молекулы с точностью более 99 %. Секвенирование происходит в процессе синтеза комплементарной последовательности ДНК с помощью ДНК-полимеразы, которая достраивает ДНК с использованием четырех флуоресцентно меченных нуклеозидтрифосфатов. Физически процесс определения последовательности сводится к регистрации сигнала единичного флуорофора и определению его спектра. Процесс секвенирования происходит с использованием 100 нм цилиндрической апертуры (изготовлена в 100 нм пленке алюминия), называемой волноводом нулевой моды (рис. 1, б). Использование наноапертур позволяет решить сразу несколько задач: 1) работа с единичными молекулами; 2) эффективное снижение сигнала засветки от объема жидкости с мечеными нуклеотидами расположенными над пленкой алюминия.

Задача данной работы – создание методики тестирования и разработка оптической части секвенатора единичных молекул ДНК. Данная задача является технически сложной, так как поток фотонов в реальных условиях является крайне низким и необходимо решить проблемы эффективного возбуждения и сбора излучения, минимизации паразитной флуоресценции, фиксации исследуемых объектов на дне волноводов нулевой моды. Продемонстрированы результаты работы с одиночными флуорофорами, детектирование ультранизких сигналов, определение спектрального состава излучения. Продемонстрированы эффективные процессы пассивации алюминиевой пленки и функционализации кварцевого дна волноводов нулевой моды для эффективной пришивки исследуемых флуорофоров. Продемонстрировано функционирование оптической схемы с помощью эмульсии работы полимеразы по использованию излучения светодиодов со спектральным составом, аналогичным спектрам излучения соответствующих меток трифосфатов, используемых при секвенировании (рис. 1, б).

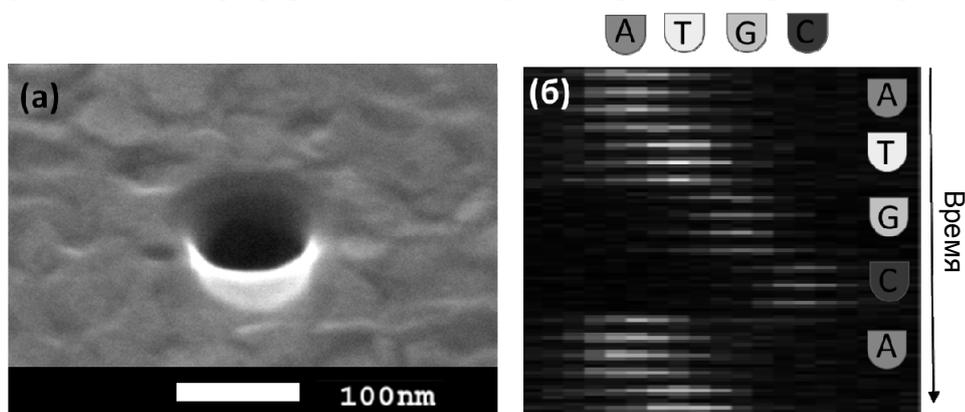


Рис. 1. Изображение волновода нулевой моды диаметром 100 нм, изготовленного в пленке алюминия (а); результаты эмульсии секвенирования (б)

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках проекта Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы (Соглашение № 075-15-2021-1057).

Литература

1. Eid J. et al. Real-time DNA sequencing from single polymerase molecules //Science. – 2009. – Т. 323, № 5910. – С. 133–138.

ИССЛЕДОВАНИЕ ИОННОГО ТРАНСПОРТА В ТВЕРДОТЕЛЬНЫХ НАНОПОРАХ, ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОННОЙ ЛИТОГРАФИИ

Д. В. Лебедев^{1,2,3}, Н. В. Ваулин^{1,2}, П. К. Афоничева^{1*}, А. С. Букатин^{1,2}

¹Институт аналитического приборостроения РАН,
Санкт-Петербург, 198095, ул. Ивана Черных, д. 31-33, лит. А

²Академический университет им. Ж.И. Алфёрова,
Санкт-Петербург, 194021, ул. Хлопина, д. 8, к. 3, лит. А

³Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, 199034, Университетская набережная, д. 7/9

* polina.afonicheva@gmail.com

Экспериментальное и теоретическое исследование транспорта в микро- и наноканалах имеет не только фундаментальное, но и прикладное значение для различных областей науки и техники [1]. К ним можно отнести разделение смесей и получение чистых веществ, электрохимическое преобразование энергии, разработку биохимических сенсоров.

Целью данной работы являлось исследование закономерностей транспорта ионов в микро- и нанопорах. Для реализации данной цели необходимо провести исследование новых механизмов селективного разделения компонентов растворов при наличии неоднородного электромагнитного поля внутри наноканалов. Методы электронной и ионной литографии позволили создать нанопоры с заданными геометрией и электропроводными свойствами. Такие структуры являются оптимальной модельной системой для исследования транспорта ионов.

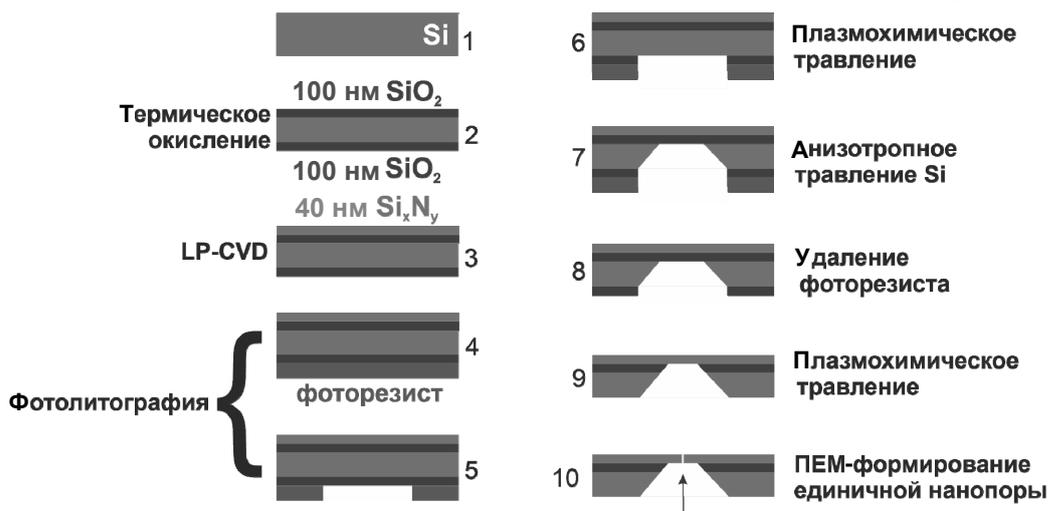


Рис. 1. Схематическое изображение этапов формирования твердотельных нанопор

В рамках работы была предложена методика формирования nanoотверстий (нанопор) в свободноподвешенной полупроводниковой мембране. Схематически данная методика представлена на рис. 1. На первом этапе необходимо сформировать свободноподвешенную полупроводниковую мембрану в кремниевой подложке. Для этого была проделана последовательность действий. На двухсторонне полированную пластину Si (100) методом реакционно-магнетронного напыления было нанесено покрытие из Si_xN_y толщиной ~300 нм. Именно толщина этого слоя будет в дальнейшем определять длину поры. Аналогично Si_xN_y был нанесен на обратную сторону кремниевой пластины. Далее на одной из сторон была сделана фотолитография для формирования рисунка маски при дальнейшем анизотропном травлении Si_xN_y. Использовался фоторезист AZ 3027, нанесенный и экспонированный по стандартной методике. В результате фотолитографии на поверхности Si_xN_y была получена маска со вскрытыми областями в форме квадратов. Для удаления «вскрытых» окон из Si_xN_y использовалось плазмохимическое травление. Рабочим газом являлся CF₄. Далее было проведено жидкостное анизотропное травление кремниевой пластины в 20 % KOH при температуре 85 °C. Время травления составило 4 ч. Маской для травления являлся Si_xN_y.

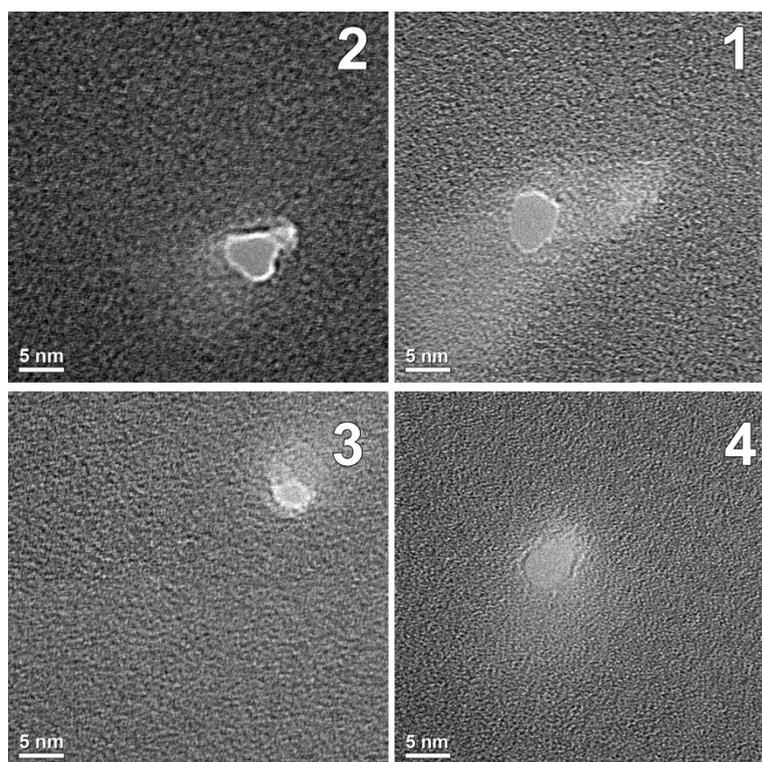


Рис. 2. Типичные РЭМ-изображения полученных твердотельных нанопор

На финальной стадии в полученной мембране формировались единичные нанопоры методом травления в сфокусированном ионном пучке (FIB). При этом использовался пучок ионов галлия с энергией 30 кэВ. Травление производилось в точке при токах порядка 10 пА и временах 0.5 с. На рис. 2 приведены типичные изображения получаемых единичных нанопор.

Для оценки зависимости проводимости наноканала от концентрации электролита была применена методика, подробно описанная в [2]. При низких концентрациях проводимость поры растет слабо, тогда как при высоких концентрациях рост становится существенным. Такое поведение ионной проводимости можно объяснить перекрытием двойных электрических слоев при низких концентрациях электролита.

Таким образом, в рамках работы была разработана методика формирования одиночных нанопор в свободноподвешенной SiN-мембране произвольной толщины. Синтезированы единичные поры диаметром 30...50 нм и длиной 300 нм. Кроме того, были исследованы транспортные свойства полученных пор в растворах модельных электролитов.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 20-74-10117).

Литература

1. Pourcelly G. et al. Applications of Charged Membranes in Separation, Fuel Cells, and Emerging Processes // *Ionic Interactions in Natural and Synthetic Macromolecules*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2012. P. 761–815.
2. Lebedev D. et al. Focused ion beam milling based formation of nanochannels in silicon-glass microfluidic chips for the study of ion transport // *Microfluidics and Nanofluidics*. 2021. Vol. 25, № 6. P. 1–10.

ИНТЕГРАЛЬНЫЙ ТРАНСИВЕР НА ОСНОВЕ МИКРОДИСКОВОГО ЛАЗЕРА И ФОТОДЕТЕКТОРА

Н. В. Крыжановская^{1,2 *}, Э. И. Моисеев¹, Ф. И. Зубов^{1,2}, А. С. Драгунова^{1,2}, К.А. Иванов¹,
М. В. Максимов², Н. А. Калюжный³, С. А. Минтаиров³, М. М. Кулагина³, Ю. А. Гусева³,
А. И. Лихачев³, А. Е. Жуков¹

¹Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики»,
Санкт-Петербург, 190121, ул. Союза Печатников, д. 16

²Алфёровский университет, Санкт-Петербург, 194021, ул. Хлопина, д. 8/3

³ФТИ им. А. Ф. Иоффе, Санкт-Петербург, 194021, Политехническая ул., д. 26

* nataliakryzh@gmail.com

Полупроводниковые резонаторы с дисковой геометрией, поддерживающие моды шепчущей галереи (МШГ), являются перспективными для создания на их основе энергоэффективных и малогабаритных источников когерентного излучения, пригодных для различных приложений. Для ряда практических применений желательнее объединить полупроводниковый МШГ-микролазер с фотодетектором (ФД), сформировав трансивер, занимающий малую площадь и способный к высокому быстродействию. Такие трансиверы с открытым оптическим каналом между микролазером и детектором, доступным для внешнего воздействия, могут быть использованы в качестве различных типов микросенсоров (биосенсоры, обнаружение наночастиц), гальванической развязки, бесконтактного управления и т. д. В настоящей работе исследованы оптические характеристики интегральных трансиверов разной конфигурации, состоящих из микродискового (МД) лазера с активной областью на основе квантовых яма-точек (КЯТ) InGaAs/GaAs и ФД, сформированного из этой же гетероструктуры. Гетероструктуры для создания трансиверов получены методом МОС-гидридной эпитаксии на подложке GaAs. В качестве активной области служили 5 слоев InGaAs/GaAs квантовых яма-точек. Для формирования трансиверов с различной конфигурацией фотодетекторов использовалась фотолитография и плазмохимическое травление. В качестве передатчика использовались МД-лазеры диаметром от 30 до 50 мкм. Светочувствительная грань ФД находилась на расстоянии ~13 мкм от излучающей поверхности микролазеров. Металлические контакты к слоям гетероструктуры *p*- и *n*-типа были сформированы с помощью AgMn/Ni/Au- и AuGe/Ni/Au-металлизации (рис. 1).

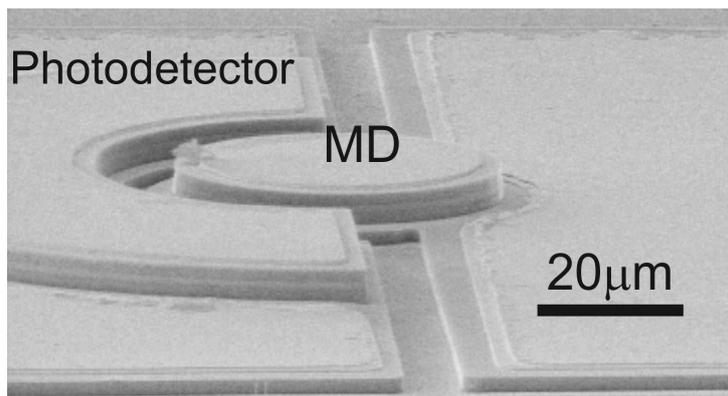


Рис. 1. Изображение, полученное с помощью сканирующей электронной микроскопии интегрального трансивера

В работе исследован отклик ФД на сигнал микролазера для каждой из конфигураций трансиверов. Показана возможность детектирования излучения микродискового лазера диаметром с помощью близкорасположенного интегрального фотодетектора с аналогичной активной областью.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-12-00287, <https://rscf.ru/project/18-12-00287/>.

КВАДРУПОЛЬНЫЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТР МС7-200 ДЛЯ АНАЛИЗА СОСТАВА ГАЗОВЫХ СМЕСЕЙ

Ю. А. Титов*, А. Г. Кузьмин, В. В. Манойлов, И. В. Заруцкий, Н. А. Есикова

*Институт аналитического приборостроения РАН,
Санкт-Петербург, 198095, ул. Ивана Черных, д. 31-33, лит. А*

*- titov.uriy@gmail.com

В Институте аналитического приборостроения РАН разработан малогабаритный транспортный квадрупольный масс-спектрометр с прямым капиллярным вводом МС7-200 для анализа газовых сред. Прибор имеет диапазон масс 200 а. е. м., разрешающая способность – 1 а. е. м. и чувствительность по некоторым компонентам до десятков ppb. Масса прибора 15 кг. Также для прибора была разработана альтернативная система прямого ввода, на основе силиконовой мембраны с селективной проницаемостью, которая позволяет увеличить чувствительность по отдельным компонентам.

Основные преимущества прибора:

- одновременное измерение в режиме реального времени концентраций различных примесей в атмосфере и газовых смесях;
- возможность использования в передвижных лабораториях для оперативного контроля;
- не требует расходных материалов;
- не имеет отечественных аналогов.

С помощью масс-спектрометра МС7-200 уже более 10 лет ведутся исследования состава выдыхаемого воздуха пациентов медицинских клиник. К настоящему времени наработана обширная база масс-спектров выдыхаемого воздуха пациентов с гастроэнтерологическими, онкологическими и острыми инфекционными заболеваниями. Для постановки предварительного диагноза разработано программное обеспечение на основе метода главных компонент. В качестве эталона сравнения сформирована база масс-спектров здоровых людей. В настоящий момент продолжается расширение базы масс-спектров и одновременно разработка математического метода обработки данных по профилю масс-спектра выдыхаемого воздуха.

В Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова, прибор МС7-200 применялся для определения коэффициента легочного газообмена во время газовой и внутривенной анестезии. В результате этих исследований были обнаружены корреляции между коэффициентом легочного газообмена и наиболее болезненными этапами операций.

Масс-спектрометр использовался при исследованиях в Институте физиологии им. И. П. Павлова. Объектом исследования были крысы, забор газа осуществлялся непосредственно из трахеи, контролировались углекислый газ и кислород. При этом быстрое действие прибора позволяло четко прописывать дыхательные профили, несмотря на то что крысы могут дышать со скоростью до 180 вдохов в минуту.

С Всероссийским институтом защиты растений (ВИЗР) в рамках проекта РФФИ ведется работа по изучению газовой выделения энтомопатогенных грибов, применяемых в качестве альтернативы химическим пестицидам для защиты растений от вредителей. В рамках исследования впервые были определены некоторые соединения, выделяемые грибами, такие как оксид серы, пентан. Получен ряд профилей, характерных для конкретных видов грибов.

Здесь перечислены лишь основные работы, касающиеся биологических объектов, выполненные на масс-спектрометре МС7-200, но и они показывают востребованность прибора и широкий круг областей его применения. Кроме того, масс-спектрометр может использоваться в экологии для определения и идентификации загрязнений органического и неорганического происхождения в воздухе, в геологии для анализ газов, выделяемых в природных процессах, в санитарно-эпидемиологическом мониторинге, в промышленности для контроля вредных выбросов при производственных процессах, наличия в воздухе толуола, бензола, стирола и пр., а также для контроля состава газовых смесей в технологических процессах на производстве.

Литература

1. Пат. РФ № 94763. Квадрупольный масс-спектрометр / А. Г. Кузьмин. 15.12.09.
2. Измерение коэффициента легочного газообмена во время анестезии / А. Ю. Елизаров, А. Г. Кузьмин, А. В. Полежаев, Ю. А. Титов, В. Ю. Черebilло // Биомедицинская радиоэлектроника. М., 2015. № 8. 6. С. 10–15.
3. Метод масс-спектрометрической экспресс-диагностики по составу выдыхаемого воздуха / А. Г. Кузьмин, Е. И. Ткаченко, Л. С. Орешко, Ю. А. Титов, А. С. Балабанов // Медицинский академ. журн. 2016. Т. 16, № 4. С. 106–112.
4. Экспресс-диагностика заболеваний по выдыхаемому воздуху на основе квадрупольного масс-спектрометра / Л. В. Новиков, В. В. Манойлов, А. Г. Кузьмин, Ю. А. Титов, И. В. Заруцкий, А. О. Нефедов, А. В. Нефедова, А. И. Арсеньев // Науч. приборостроение. 2020. Т. 30, № 4. С. 94–105.
5. Масс-спектрометрические исследования состава летучих органических соединений, выделяемых различными видами грибов рода *Lecanicillium* / А. Г. Кузьмин, Ю. А. Титов, Г. В. Митина, А. А. Чоглокова // Науч. приборостроение. 2021. Т. 31, № 4. С. 71–78.

ТЕХНОЛОГИЯ ЛЕНГМЮРА ДЛЯ АНАЛИЗА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Я. К. Калниня^{1*}, А. С. Гладчук^{1,2}, Е. П. Подольская^{1,3}

¹Научно-клинический центр токсикологии им. акад. С. Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства России, Санкт-Петербург, 192019, ул. Бехтерева, д. 1

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

³Институт аналитического приборостроения РАН,
Санкт-Петербург, 198095, ул. Ивана Черных, д. 31-33, лит. А

*kln.yana.k@gmail.com

Технология Ленгмюра, основанная на получении моно- или мультимолекулярных пленок амфифильных соединений на границе раздела фаз жидкость–воздух с последующим их переносом на твердую подложку, активно применяется в электронике, оптике, прикладной химии, медицине и т. д. Адаптация технологии получения монослоев к полусферической поверхности капли позволяет получать мономолекулярные структуры непосредственно на твердой подложке, в качестве которой можно использовать мишень для матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (МАЛДИ), упрощая тем самым пробоподготовку перед масс-спектрометрическим (МС) анализом, сокращая объем используемых реагентов и повышая чувствительность метода. Было показано, что при нанесении раствора стеариновой кислоты в н-гексане на каплю водного раствора соли металла образуется коллапсированный монослой, идентичный по структуре пленке Ленгмюра. Полученные монослои отвечают всем требованиям, предъявляемым к металл-аффинным сорбентам, при этом, изменяя метал в составе водной субфазы, можно регулировать сродство к различным функциональным группам, входящим в состав аналитов. Нами было показано, что использование раствора нитрата лантана в качестве водной субфазы позволяет получать металл-аффинные сорбенты, проявляющие специфичные свойства к атомам хлора. При использовании структур, состоящих из 6 монослоев стеарата лантана, удалось провести экстракцию аддуктов хлорсодержащих ксенобиотиков с глобином человека, причем предел обнаружения аддуктов может составлять до 1:12 000 (мольное соотношение ксенобиотика и белка).

С другой стороны, использование раствора ацетата бария в качестве водной субфазы позволяет проводить дериватизацию свободных жирных кислот (СЖК) с образованием бариевых солей непосредственно на МАЛДИ-мишени. СЖК характеризуются плохой способностью к ионизации, что сильно затрудняет анализ данного класса соединений с применением МС с мягкими методами ионизации, при этом использование стандартных матриц для МАЛДИ приводит к перекрытию сигналов СЖК сигналами матричных пиков. Получение бариевых солей жирных кислот способствует, во-первых, повышению чувствительности анализа за счет увеличения выхода ионов, во-вторых, сдвигает СЖК в область больших масс.

С использованием предложенного метода была проведена металл-аффинная экстракция аддуктов глобина человека с продуктами окисления диклофенака, а также профилирование состава и идентификация СЖК в образцах биологической природы.

Таким образом, технология Ленгмюра, перенесенная с плоской поверхности на сферическую (каплю) на поверхности МАЛДИ-мишени, позволяет существенно расширить область применения МАЛДИ-МС. Описанный подход позволяет добиваться высокой чувствительности анализа при минимальных затратах как реагентов, так и аналита, а также отличается экспрессностью и простотой выполнения. Предложенная методика может использоваться при поиске биомаркеров различных заболеваний или интоксикаций, в фармацевтических исследованиях, а также для контроля качества пищевых продуктов.

АНАЛИТИЧЕСКАЯ МИКРОФЛЮИДИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОБ В СЛЕДУЮЩЕМ ПОКОЛЕНИИ ИЗМЕРИТЕЛЕЙ ЖИВОЙ ПРИРОДЫ

П. И. Белобров *

Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, 660041, пр. Свободный, д. 79

* peter.belobrov@gmail.com

Основным методом в живой природе, которым одна клетка измеряет сама себя, другие клетки, ткани и весь организм, является постоянное испускание и поглощение внеклеточных везикул. Ожидаемое создание аналитического приборостроения на базе этого метода становится возможным на микрофлюидных платформах, где используются биологические меры для анализа живых клеток в биологических переменных. Принципы аналитической микрофлюидики в природе ранее рассматривались кратко в [1].

Биологическая проба – это далеко не живая клетка, т. к. любая клетка перестает быть живой и становится неживым (полуживым, умирающим) объектом, как только она извлечена из биологической ткани. Этот пример удачный как для определения биологической пробы, так и для изучения переходов живая–неживая клетка, для понимания непрерывности нити жизни и для анализа всей проблематики клеточных линий и культур в микрофлюидике.

В биологических переменных не существует элементарных событий, все события и все объекты (клетки, ткани, органы) имеют содержание, предысторию, прошлое и будущее в наследуемом геноме. Поэтому только числовые характеристики (quantity) недостаточны для создания точного образа живой клетки в условиях высокой размерности живого состояния и ограниченного времени жизни в микрофлюидном чипе. Количественная метрология работает с номинальными свойствами (качественными переменными), полноценное использование которых возможно только при введении образных (картиночных) условных мер. Условность (относительность) биологических мер реализуется с помощью платформ, где мы измеряем характеристики встроенных в чип клеток относительно одного микрофлюидного измерителя. «Измерение картинками» реализуется с помощью достаточно хорошо разработанного анализа образов (image analysis).

Для понимания ответов на вопросы: «Что мы измеряем?» и «Что следует измерять?» основанными на образах мерами (image-based measures) рассмотрим показательные примеры ключевых технологий геномики отдельных клеток, которые используются для профилирования клеток или клеточных ядер человеческого тела [2]. Большинство измерительных технологий являются унимодальными, охватывая молекулярные модальности, такие как эпигеномика, транскриптомика и протеомика, из суспензии отдельных клеток или ядер. Технологии пространственной «омики» могут профилировать транскриптом и/или протеом в срезах интактной ткани, встроенных в чип. Мультимодальные подходы, такие как Multiome и клеточное индексирование транскриптомов и эпителиев путем секвенирования (CITE-seq), могут одновременно захватывать несколько модальностей из одной клетки или ядра. Multiome фиксирует измерения как секвенирование одноядерной РНК (snRNA-seq), так и одноклеточный анализ доступного для транспозазы хроматина с секвенированием (scATAC-seq), тогда как CITE-seq фиксирует измерения секвенирование одноклеточной РНК (scRNA-seq) и белковые маркеры из одной и той же клетки. Эти методы вместе с применением кодирования индексацией (CODEX), расщепления одиночных клеток под мишенями и мечения (scCUT&Tag), мультиплексной визуализации ионного пучка (MIBI) и бисульфитного секвенирования отдельных клеток (scBS-seq) позволяют создать правильный образ современной аналитической микрофлюидики биологических проб [2].

Встраивание биологических проб в микрофлюидные чипы, которое на английском жаргоне в этой области называют «Programming Living Cell», «Programming Organs» etc., подразумевая при этом некоторое перепрограммирование живых клеток и органов в чипе [3], становится стратегическим направлением микрофлюидики орган-на-чипе. В докладе будут

рассмотрены подробно несколько микрофлюидных платформ для «программирования живых материалов на основе клеток» следуя работе [3], для изменения характеристик развития клеток с помощью инженерных наноматериалов [4] и др.

«Живые» микроткани используются во множестве приложений, поскольку они больше напоминают физиологию нативных тканей по сравнению с 2D-культурами. Микроткани обычно состоят из комбинации клеток и материалов в различных сочетаниях, которые диктуются требованиями к дизайну приложений. Область их применения широка: от фундаментальных биологических исследований, таких как исследование дифференцировки, до промышленных применений. Однако их перевод в промышленные и клинические условия затруднен из-за отсутствия масштабируемости методов производства микротканей. Непрерывные микрофлюидные процессы дают возможность преодолеть это ограничение, поскольку они обеспечивают более высокую производительность по сравнению с традиционными периодическими методами, сохраняя при этом воспроизводимый контроль над составом и размером микроткани. В этом обзоре представлен всесторонний обзор современных подходов к инженерии микротканей с акцентом на преимущества и необходимость использования непрерывных процессов для производства микротканей в больших количествах. В докладе будет представлен обзор необходимых разработок для обеспечения крупномасштабного изготовления микротканей с использованием непрерывных процессов [5].

В эпоху регенеративной медицины используется биологическая, химическая и физическая трансфекция (процесс введения RNA/DNA в клетки эукариот невирусным методом). При внедрении междисциплинарной биологии и технических наук в терапевтические подходы к восстановлению, замене или регенерации клеток, тканей или органов для восстановления нарушенной функции рождаются новые подходы. Биоматериалы на основе клеток привлекли внимание всего мира из-за их потенциального применения в регенерации и инженерии тканей. Были разработаны различные типы клеточных биоматериалов, включая отдельные клетки, клеточные полимеры, клеточные листы, органоиды и органы [6].

При создании инженерных «живых» материалов (Engineered Living Materials – ELM) активно используется 3D-биопечать. Дизайн инженерных «живых» материалов ELM – это развивающаяся область, основанная на принципах синтетической биологии и материаловедения. ELM представляют собой объемные многокомпонентные материалы, которые сочетают в себе свойства самовосстановления и приспособляемости организма с разработанными физико-химическими или механическими свойствами для функционального применения в различных областях, включая терапию, электронику и архитектуру. Среди многих методов проектирования и производства ELM трехмерная (3D) биопечать выделяется своим точным контролем над структурой изготовленных конструкций и пространственным распределением клеток. В обзоре [6] суммирован прогресс в этой области, выбор типа клеток и материалов, а также последние применения 3D-биопечати для производства ELM, а также их преимущества и ограничения, с надеждой углубить наше понимание и дать новое представление о конструкции ELM. Считается, что 3D-биопечать станет важным направлением развития и внесет большой вклад в эту область [7].

Таблица 1. Сравнение числа опубликованных статей по 3D/4D-биопринтингу

Ключевое слово	Количество статей в Google Scholar				
	Всего	в 2000	в 2010	в 2020	в 2022
"3D bioprinting"	30 300	43	128	4 630	4 800
"4D printing"	12 600	2	17	2 060	2 890
"4D bioprinting"	1 340	1	5	240	327

Слушателям будет рассказано о 4D-печати, идея которой была впервые представлена 10 лет назад и вызвала беспрецедентный интерес. Метод основан на технологии 3D-печати, но требует дополнительных стимулов и материалов, реагирующих на стимулы, которые весьма услов-

но называют «живыми». На основе определенных механизмов взаимодействия между стимулом и интеллектуальными материалами, а также соответствующего проектирования сложных структур на основе математического моделирования 4D-печатные структуры развиваются в зависимости от времени и демонстрируют «разумное» поведение. В отличие от 3D-печати 4D-печать зависит от времени, не зависит от принтера, предсказуема и нацелена на эволюцию формы/свойств/функциональности. Это позволяет осуществлять самостоятельную сборку, многофункциональность и самостоятельный ремонт. В докладе будет представлен обзор процесса 4D-печати и обобщены практические концепции и связанные с ними инструменты, которые играют важную роль в микрофлюидике этой области [8]. Материалы «стимул-реакция» играют решающую роль в отношении 4D-печати. Реагирующие на стимулы характеристики 4D-печатных компонентов в основном зависят от свойств используемых материалов, реагирующих на стимулы, а также их комбинации и расположения в трехмерном пространстве. Однако до сих пор было разработано лишь ограниченное количество материалов, реагирующих на раздражители, для 4D-печати, что сильно ограничивает использование прикладного потенциала 4D-печати. Таким образом, чувствительные к раздражителям материалы для 4D-печати стали ключевыми направлениями исследований в научных кругах и инженерных областях [9].

Завершается доклад примером недавно созданного идеального полностью перестраиваемого (reconfigurable) микрофлюидного устройства, которое может динамически изменять свою форму и функционирование, позволяя настроить микромасштабный эксперимент, дающий возможность исследователю принимать решения в реальном времени [10].

Литература

1. Микрофлюидные технологии биологического анализа природных и промышленных вод / под ред. А. А. Евстапов, П. И. Белобров. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2017. 162 с.
2. Marečková, Magda, Hassan Massalha, Valentina Lorenzi, and Roser Vento-Tormo. Mapping Human Reproduction with Single-Cell Genomics // *Annual Review of Genomics and Human Genetics*. 2022. № 23. P. 523–547.
3. Zhang, P., Shao N., Qin L. Recent Advances in Microfluidic Platforms for Programming Cell-Based Living Materials (review) // *Advanced Materials*. 2021. № 33 (46). P. 2005944.
4. Dehnavi, S. S., Zadeh Z. E., Harvey A. R. et al. Changing fate: reprogramming cells via engineered nanoscale delivery materials (review) // *Advanced Materials*. 2022. № 34 (33). P. 2108757.
5. Schot, M., Araújo-Gomes N., Loo B., Kamperman T., Leijten J. Scalable fabrication, compartmentalization and applications of living microtissues (review) // *Bioactive Materials*. 2023. № 19. P. 392–405.
6. Jiang, Zhiwei, Mengdie Fu, Danji Zhu, Xueting Wang, Na Li, Lingfei Ren, Jin He, and Guoli Yang. Genetically Modified Immunomodulatory Cell-Based Biomaterials in Tissue Regeneration and Engineering // *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 2022. № 66. P. 53–73.
7. Ze, Yiting, Ruixin Wang, Hanzhi Deng, Zheqing Zhou, Xiaojun Chen, Linyang Huang, and Yang Yao. Three-dimensional bioprinting: A cutting-edge tool for designing and fabricating engineered living materials // *Biomaterials Advances*. 2022. № 140. P. 213053.
8. Momeni, Farhang, Xun Liu, and Jun Ni. A review of 4D printing // *Materials & design*. 2017. № 122. P. 42–79.
9. Frederic Demoly, Jean-Claude Andre. 4D Printing. Wiley-ISTE, 2022. Vol. 1: Between Disruptive Research and Industrial Applications. 367 p.; Vol. 2: Between Science and Technology. 321 p.
10. Paratore, Federico, Vesna Bacheva, Moran Bercovici, and Govind V. Kaigala. Reconfigurable microfluidics // *Nature Reviews Chemistry*. 2022. № 6 (1). P. 70–80.

ОПЫТ РАЗРАБОТКИ И ВНЕДРЕНИЯ ПОРТАТИВНЫХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ СИСТЕМ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ МЕТОДОМ ИЗОТЕРМИЧЕСКОЙ АМПЛИФИКАЦИИ НА ПРИМЕРЕ АНАЛИЗАТОРА «ИЗАСКРИН-8»

Д. В. Басманов*, К. А. Прусаков

*Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства»,
Москва, 119435, ул. Малая Пироговская, д. 1А
* dmitry.basmanov@niiifhm.ru*

Сегодня во многих странах проведение молекулярно-генетического теста, позволяющего установить факт присутствия в пробе генетического материала возбудителя, является необходимой процедурой для постановки диагноза как с медицинской, так и с юридической точки зрения. Пандемия коронавируса SARS-Cov-2 выявила необходимость проводить такие анализы в экспресс-режиме и в «полевых условиях». Для удовлетворения этой потребности группой разработчиков был создан портативный анализатор «Изаскрин-8». Этот прибор позволяет проводить молекулярно-генетический тест методом петлевой изотермической амплификации с детекцией в «реальном времени». Анализатор совмещает в себе функции прецизионного термостата и высокочувствительного детектора флуоресцентного излучения. Кроме того, прибор имеет встроенную аппаратную возможность проведения экстракции генетического материала из биологической пробы термокоагуляционным методом. Петлевая изотермическая амплификация – один из перспективных и активно развивающихся методов амплификации нуклеиновых кислот как для научных исследований, так и для диагностики инфекционных заболеваний. Ключевой особенностью этого метода является возможность проводить амплификацию при постоянной температуре, что, с одной стороны, позволяет сократить время проведения анализа по сравнению с методом ПЦР, а с другой стороны, приводит к упрощению приборной базы. Для детекции количества продуктов изотермической амплификации в данной разработке используется регистрация флуоресцентного излучения интеркалирующего красителя в спектральном диапазоне 520...560 нм. Анализатор «Изаскрин-8» позволяет одновременно проводить амплификацию и детекцию в 8 стандартных ПЦР-пробирках конусной формы объемом 0,2 мкл. Прибор оснащен двумя независимыми термостатами амплификации, в каждом из которых расположены 4 независимых слота детекции. Такая конструкция обусловлена тем, что для проведения достоверного и валидированного анализа одновременно с амплификацией биологической пробы, в зависимости от набора реагентов, часто необходимо проводить анализ нескольких контрольных растворов. Такая конструкция анализатора позволяет одновременно проводить валидированный молекулярно-генетический анализ минимум двух проб.

Таким образом, создан компактный, мобильный, чувствительный анализатор, который прошел все необходимые технические и клинические испытания, по результатам которых прибор получил регистрационное удостоверение на медицинское изделие «Амплификатор изотермический «Изаскрин-8» для выявления нуклеиновых кислот с детекцией флуоресценции в реальном времени» (РУ Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения № РЗН 2022/17322). Также в Федеральной службе по интеллектуальной собственности на анализатор получены патенты на полезную модель и на промышленный образец [1, 2]. «Изаскрин-8» может использоваться с различными наборами реагентов для изотермической амплификации (с различными тест-системами) и может применяться для диагностики как COVID-19, так и других инфекционных заболеваний.

Литература

1. Пат. на полезную модель № RU210215U1. Анализатор для проведения изотермической амплификации нуклеиновых кислот / А. В. Мезин, С. А. Наумов, К. А. Прусаков, К. А. Назаренко, К. Г. Алдаров, М. Н. Бажутов, А. Ю. Наумов, Е. Н. Ильина, В. М. Говорун, Д. В. Басманов.
2. Пат. на промышленный образец № 130747. Анализатор для проведения изотермической амплификации / А. В. Мезин, К. А. Назаренко, С. А. Наумов, А. П. Каньгин, Д. В. Басманов, В. М. Говорун.

СРЕДСТВА УПРАВЛЕНИЯ ПОТОКАМИ ЖИДКОСТЕЙ В КАНАЛАХ МИКРОФЛЮИДНЫХ ПРИБОРОВ

В. В. Рыжков^{1*}, В. В. Ечеистов^{1,2}, А. В. Зверев¹, Т. Константинова¹, Д. А. Баклыков^{1,2},
Е. С. Лотков^{1,2}, Р. Ш. Алибеков¹, А. К. Кугук¹, Е. С. Краско¹, А. Р. Александров²,
А. А. Барбашева¹, П. Г. Рязанцев¹, И. А. Рыжиков¹, И. А. Родионов^{1,2}

¹ МГТУ им. Н. Э. Баумана, Москва, 105005, ул. 2-я Бауманская, д. 5, к. 1

² ФГУП «ВНИИА», Москва, 101000, Моспочтамт, а/я 918

* vv.rizhkov@gmail.com

Лаборатория на чипе (ЛНЧ) составляет основу портативных аналитических систем нового поколения. ЛНЧ позволяет управлять многоступенчатыми химическими реакциями на микрофлюидном чипе, что требует надежного и точного инструмента для контроля потоков жидкостей в микрофлюидном устройстве.

Наиболее часто для этих целей применяют перистальтические насосы, шприцевые насосы и контроллеры давления (КД) с отдельными сенсорами потока. Шприцевые насосы широко используются в микрофлюидике из-за их простоты в эксплуатации и способности напрямую контролировать объемную скорость потока. Тем не менее существенными недостатками таких систем являются высокое время отклика и флуктуации потока. Перистальтические системы также удобны в использовании, но низкая точность и сильные пульсации потока жидкости существенно ограничивают область их применения. КД с сенсорами потока обеспечивают высокую производительность и плавный поток. Однако для подключения датчиков потока к ЛНЧ требуются подводящие трубки, которые добавляют «мертвый» объем, в десятки раз больший, чем внутренний объем ЛНЧ.

В докладе представлен микрофлюидный тепловой сенсор потока (МТСП), который можно интегрировать в биосовместимый микрофлюидный чип. Разработанный МТСП отличается возможностью проведения безмембранных измерений потока жидкости в канале и технологией «кремний-на-стекле», что позволяет использовать сенсор с агрессивными биологическими жидкостями и при высоких давлениях в ЛНЧ. Более того, технология полностью совместима с серийным производством устройств. Текущая версия сенсора позволяет измерять поток в диапазоне 2...30 мкл/мин с точностью 5 % от измеренного значения.

Сенсор предназначен для широкого спектра передовых применений, включая автоматизированную подготовку проб на чипе для геномных исследований, хроматографию на чипе, генерацию микроэмульсий, микрофлюидные устройства для нефтехимии, медицинские аналитические устройства.

Благодарности

Работа выполнена с использованием материально-технической базы ЦКП Научно-образовательного центра «Функциональные Микро/Наносистемы» МГТУ им. Н. Э. Баумана (ID 74300).

КАРМАННЫЙ АМПЛИФИКАТОР ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ПРОСТЫХ МИШЕНЕЙ

С. Ю. Пауль*, Е. В. Горский

ООО «Троицкий инженерный центр», Москва, г. Троицк, 108840, ул. Академика Франка, д. 16
* paul@trdc.com

На примере пандемии коронавирусной инфекции человечество осознало важность быстрого и точного выявления патогенных биологических агентов. Причём портативные системы в таком случае обладают преимуществом в скорости проведения анализа, при этом минимизируется контакт потенциально инфицированного человека с другими людьми.

В настоящее время на рынке биоаналитического оборудования наблюдается резкий скачок новых разработок в области прикроватной диагностики (англ. point-of-care testing – РОСТ), которые используются для быстрого выявления определенных заболеваний вне лаборатории. При этом подобные устройства не требуют высококвалифицированного персонала для работы с ними.

В 2022 году в компании «Троицкий инженерный центр» была разработана полуавтоматическая система для проведения ускоренного анализа ДНК/РНК-мишеней в образцах биоматериала из слизистой оболочки носоглотки человека с использованием колориметрической изотермальной амплификации, позволяющей проводить детекцию мишеней визуально в реальном времени.



Рис. 1. Полуавтоматическая система, состоящая из картриджа и станции

Полуавтоматическая система состоит из картриджа с реагентами для амплификации. Сам картридж состоит из двух основных компонентов: микрофлюидной платформы с лиофилизированными реагентами и электронной платы, которая прикреплена к микрофлюидной платформе. После взятия мазка из носоглотки зонд-тампон помещается в пробирку с раствором и обрезается или вращается в растворе на протяжении 10...15 с, после чего удаляется. Жидкость с образцом переносится в картридж и самотеком расходуется по реакционным лун-

кам, в которых расположены лиофилизированные реагенты для изотермальной амплификации. Картридж помещается в станцию, после чего запускается процесс изотермальной амплификации, индикация результатов которой представляет собой изменение окраски реакционной смеси за счет изменения рН [1].



Рис. 2. Тестирование картриджа

Основные преимущества системы:

1. Возможность детектировать от 1 до 6 патогенов в одном картридже.
2. Результат уже через 20 мин.
3. Система не требует высококвалифицированного персонала.
4. Высокий уровень мобильности.
5. Дешевизна системы делает ее доступной для приобретения.

Литература

Nathan A. Tanner, Yinhua Zhang, and Thomas C. Evans Jr. Visual detection of isothermal nucleic acid amplification using pH-sensitive dyes // *BioTechniques*. Febr. 2015. Vol. 58. P. 59–68.

POINT-OF-CARE УСТРОЙСТВА НА ОСНОВЕ МЕТОДОВ ОПТИЧЕСКОЙ ТКАНЕВОЙ ОКСИМЕТРИИ

А. Ю. Зайцева^{1*}, И. В. Сидоровский², А. А. Чередникова¹, М. С. Мазинг¹

¹Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург, 198095,
ул. Ивана Черных, д. 31-33, лит. А

²ИТМО, Санкт-Петербург, 197101, Кронверкский проспект, д. 49, лит. А

* anna@da-24.ru

С увеличением ритма жизни возрастает актуальность использования методов экспресс-диагностики состояния здоровья человека. Наибольшее предпочтение при реализации диагностики функционального состояния человека отдается бесконтактным методам, особенно в случаях индивидуального их использования вне медицинского учреждения, так называемым point-of-care устройствам [1].

Анализ параметров микроциркуляции является необходимой процедурой и обязательным условием для достоверной оценки текущего функционального состояния человека и прогноза развития патологических состояний. В настоящее время для исследования микроциркуляции активно развивается метод оптической тканевой оксиметрии, который сочетает в себе неинвазивность и сравнительно низкую стоимость. Однако существующие технические реализации данного метода все ещё являются неидеальными, что существенно затрудняет получение достоверной информации о микроциркуляции и не позволяет оценить общее состояние здоровья человека.

Для решения рассмотренных проблем нами была разработана система point-of-care для экспресс-диагностики состояния здоровья человека. В качестве базового принципа работы разрабатываемого аппаратно-программного комплекса был выбран неинвазивный метод оптической тканевой оксиметрии, физический принцип работы которого лежит в различии спектральных характеристик различных форм гемоглобина. Устройство представляет собой многоканальную оптическую систему со встроенными источниками излучения, которая работает в широком диапазоне оптического излучения от 410 до 940 нм. Фотодетектор регистрирует обратнорассеянный в биологических тканях свет, что позволяет производить измерения на разных участках человеческого тела. Кроме того, наличие нескольких оптических фотодетекторов в конструкции оптического оксиметра на разном расстоянии от источника позволяет оценить микроциркуляцию тканей на разной глубине, что является большим преимуществом методики [2].

При разработке системы в работе применялись как современные наукоемкие технические решения, так и специализированные информационные технологии, методы (алгоритмы, модели) обработки и анализа данных (в т. ч. применялись современные методы машинного обучения). Таким образом, структурно оптическая система состоит из двух основных модулей – электронно-сенсорного (измерительного) и информационного (вычислительного). В качестве вычислителя (внешнего контроллера) используется персональный компьютер, выполняющий специально разработанные программы для сбора, хранения и обработки многомерных данных.

В экспериментальных исследованиях участвовали четыре испытуемых возраста с диагностированным диагнозом «сахарный диабет». Измерения проводились одновременно двумя методиками. Использовался разработанный нами аппаратно-программный комплекс оптической тканевой оксиметрии и независимый медико-биологический метод. В качестве независимого метода был выбран транскутанный оксиметр Tina TCM4, определяющий уровень чрезкожного напряжения кислорода. Испытуемым была предложена функциональная нагрузка в виде окклюзионной пробы. Проводилось наблюдение за восстановлением тонического состояния сосудов предплечья.

Результаты анализа микроциркуляции по классической медицинской методике коррелировали с результатами предложенного нами оптического аппаратно-программного комплекса. У испытуемых наблюдалась разная тенденция в восстановлении кровоснабжения после окклюзии, что свидетельствует о разной реакции организма на окклюзионный стресс, а также о проявлении у испытуемых разных типов микроциркуляции. Таким образом, результаты экспериментальных исследований показали эффективность предложенной методики и позволяют рекомендовать её для выявления индивидуально-типологических особенностей микроциркуляции крови и оценки общего функционального состояния организма человека.

Благодарности

Исследование выполнено в рамках Государственного задания № 075-00280-21-00 по теме «Новые подходы к разработке аналитических систем на основе генетических, физико-химических и иммунных методов исследования» СУ НИР 0074-2019-0013.

Литература

1. Development of a multi-sensor analytical trainable system for non-invasive evaluation of adaptedness status of hazardous occupation specialists / A. Yu Zaitceva, L. P. Kislyakova, Yu. Ya. Kislyakov, S. A. Avduchenko // *J. of Physics: CS*. 2019. Vol. 1400. P. 033022.
2. Monitoring of Oxygen Supply of Human Tissues Using A Noninvasive Optical System Based on A MultiChannel Integrated Spectrum Analyzer / M. S. Mazing, A. Yu. Zaitceva, Yu. Ya. Kislyakov, N. S. Kondakov, S. A. Avdushenko, V. V. Davydov // *International J. of Pharmaceutical Research*. 2020. Vol. 12, № 2. P. 1974–1978.

МИКРОФЛЮИДНЫЕ ПРИБОРЫ И ПРОГРАММНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДЛЯ ИЗМЕРЕНИЯ ПАРАМЕТРОВ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ РЕАКЦИЙ

И. А. Денисов*, К. А. Лукьяненко, В. В. Сорокин, А. С. Якимов, П. И. Белобров

Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, 660041, пр. Свободный, д. 79

* d_ivan@mail.ru

Для решения проблемы оценки качественных характеристик воды находит применение реагент на основе ферментов биолюминесцентных организмов [1]. Многие медицинские тесты также основаны на биолюминесцентных сигнальных системах, где в ходе биохимических реакций происходит испускание квантов света. Для проведения анализа параметров таких реакций в широкой практике для задач медицинского тестирования и экологического мониторинга необходимы портативные автоматизированные приборы и программное обеспечение.

Кремниевые фотоэлектронные умножители (Si-ФЭУ) при ценовой доступности сочетают чувствительность выше чем у ПЗС- и КМОП-матриц и меньшие габариты, чем у классических фотоэлектронных умножителей. Si-ФЭУ постепенно находят применение в биомедицинских приборах [2–4]. Основной недостаток такого рода детекторов – малая площадь и наличие высокого уровня паразитных срабатываний, обусловленных тепловыми шумами в полупроводниковой структуре Si-ФЭУ.

После ряда исследований нами было предложено техническое решение для измерения параметров биолюминесцентных реакций (рис. 1) в виде микрофлюидных чипов [5] и портативного люминометра на основе детекторов Si-ФЭУ [6]. Небольшая площадь детектора была компенсирована применением оптического элемента в виде светособирающей усечённой пирамиды, а уровень тепловых срабатываний детектора был стабилизирован для дальнейшего учёта с помощью электронной системы контроля температуры детектора.

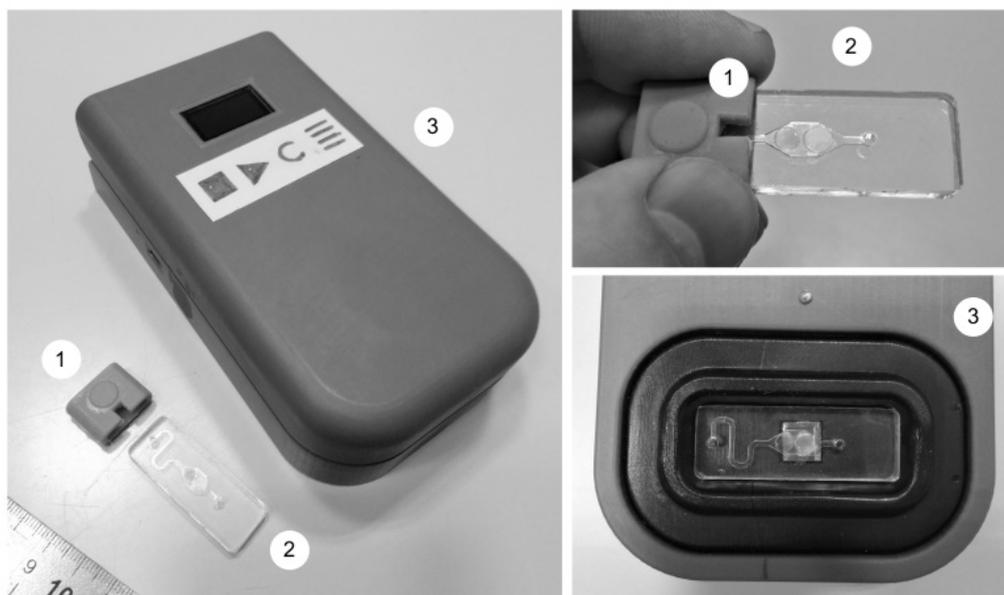


Рис. 1. Пневматический силиконовый пробозаборник (1), одноразовые полимерные чипы с иммобилизованной системой ферментов из биолюминесцентных организмов (2) и портативный микрофлюидный биолюминометр (3)

Сравнение прибора с импортным аналогом GloMax 20/20 (Promega, США) показало сравнимые характеристики (рис. 2), что позволяет сделать выводы о возможности широкого применения предложенной схемы измерения.

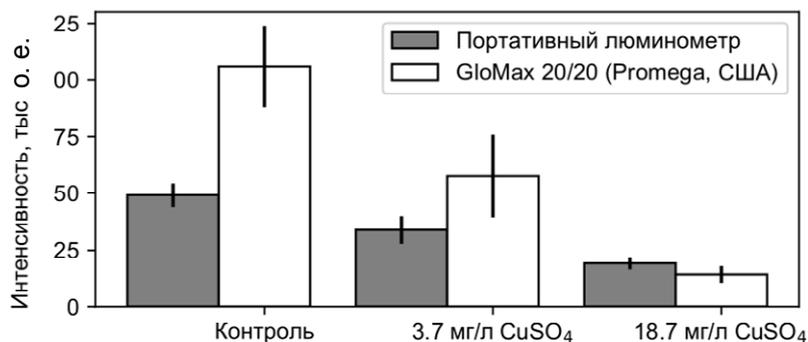


Рис. 2. Сравнение измерений интенсивности биолюминесценции в чипах, полученных на разработанном приборе и люминометре GloMax 20/20 (Promega, США)

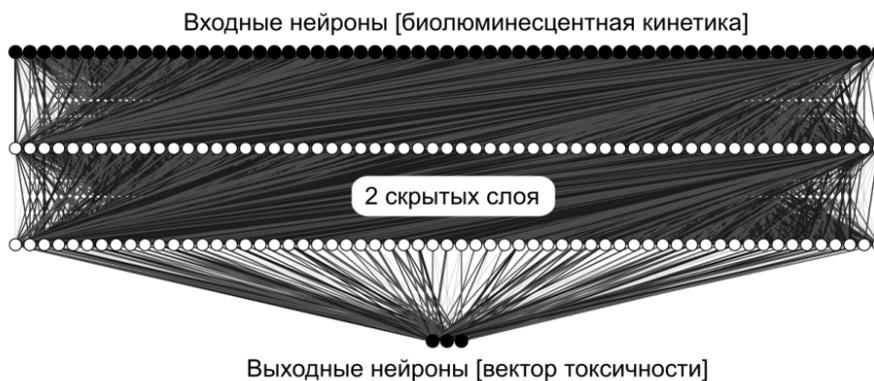


Рис. 3. Графическое представление нейросетевой имитационной модели для функции отображения кинетической кривой биолюминесцентной реакции в числовой код наличия одного из трех модельных загрязняющих веществ («вектор токсичности»)

Для сбора и анализа данных было разработан набор алгоритмов, в том числе с применением методов машинного обучения. При наличии достаточного количества экспериментальных данных для установления корреляционной зависимости нейросетевая модель успешно классифицировала один из типов загрязнителей (фенолы, хиноны, соли тяжелых металлов), с последующим определением концентрации вещества, если оно было единственным загрязнителем в пробе.

В докладе будут представлены данные о продолжении исследований по разработке оптических приборов и программ для сбора и обработки данных.

Литература

1. Esimbekova E. N. et al. Design of bioluminescent biosensors for assessing contamination of complex matrices // *Talanta*. 2021. Vol. 233. P. 122509.
2. Li H. et al. Silicon photomultiplier (SPM) detection of low-level bioluminescence for the development of deployable whole-cell biosensors: possibilities and limitations // *Biosensors & bioelectronics*. 2012. Vol. 33, № 1. P. 299–303.
3. Jung Y. et al. Design and application of a portable luminometer for bioluminescence detection // *Appl. Opt.* 2020. Vol. 59, № 3. P. 801.
4. Calabretta M.M. et al. Ultrasensitive On-Field Luminescence Detection Using a Low-Cost Silicon Photomultiplier Device // *Anal. Chem.* 2021. Vol. 93, № 20. P. 7388–7393.
5. Denisov I. et al. Disposable luciferase-based microfluidic chip for rapid assay of water pollution // *Luminescence*. 2018. Vol. 33, № 6. P. 1054–1061.
6. Lukyanenko K. et al. Handheld Enzymatic Luminescent Biosensor for Rapid Detection of Heavy Metals in Water Samples // *Chemosensors*. 2019. Vol. 7, № 1. P. 16.

СИНТЕЗ МЕТАЛЛООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В НЕПРЕРЫВНОМ ПОТОКЕ ДЛЯ ПОВЫШЕННОЙ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЗАГРУЗКИ

К. В. Арабули¹, И. Г. Корякина¹, С. В. Бачинин¹, Е. Н. Герасимова¹, М. В. Тимофеева¹,
С. А. Шипиловских¹, А. С. Букатин^{2,3}, А. Сахатский⁴, А. С. Тимин^{1,5}, В. А. Миличко^{1,6},
М. В. Зюзин¹

¹Физический факультет, университет ИТМО, Санкт-Петербург, 191002, ул. Ломоносова, д. 9

²СПбАУ РАН им. Ж. И. Алфёрова,

Санкт-Петербург, 194021, ул. Хлопина, д. 8, к. 3, лит. А

³Институт аналитического приборостроения РАН,

Санкт-Петербург, 198095, ул. Ивана Черных, д. 31-33, лит. А

⁴Санкт-Петербургский государственный университет,

Санкт-Петербург, 199034, Университетская набережная, д. 7–9

⁵Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург

⁶Университет Лотарингии, Национальный центр научных исследований (CNRS),

Институт Жана Ламура (IJL), F-54000 Нанси, Франция

Аннотация. Традиционные методы химического синтеза для изготовления наноматериалов не всегда обеспечивают точный воспроизводимый синтез с контролируемыми физико-химическими параметрами. Лучший контроль над результирующими свойствами наноматериалов может быть достигнут за счет уменьшения масштаба синтеза до микроуровня. Это может быть реализовано с помощью микрофлюидики. В данной работе был продемонстрирован микрофлюидный подход для управляемого синтеза микрокристаллов металлорганических конструкций (HKUST-1) с повышенным количеством дефектов. Процесс синтеза был оптимизирован для получения развитой поверхности у синтезируемых структур, которая обеспечивает повышенную молекулярную загрузку (Cu5). Структурная характеристика частиц выполнена с помощью сканирующей электронной микроскопии, рамановской спектроскопии, порошковой рентгеноструктурной дифракции.

Введение. За последние несколько десятилетий большое внимание уделяется изготовлению новых наноструктурированных материалов с регулируемыми свойствами. На сегодняшний день на смену традиционным методам приходят новые, которые позволяют более точно настраивать физико-химические свойства синтезируемых материалов, а именно микрофлюидные технологии предлагают альтернативный подход к контролируемому синтезу наноматериалов с желаемыми свойствами. Микрофлюидный синтез наночастиц обладает рядом преимуществ по сравнению с традиционными методами синтеза, среди которых эффективное смешивание, повышенный тепло- и массообмен, управляемая нуклеация и рост, а также возможность масштабирования результатов синтеза. Эти свойства в сочетании с возможностью автоматизации нескольких процессов на одном микрочипе делают микрофлюидику привлекательной платформой для изготовления наночастиц с заданными размером, формой и другими свойствами.

В этой работе применяется метод микрофлюидного непрерывного синтеза для демонстрации возможности получения микрокристаллов металлорганической конструкции (HKUST-1) с повышенным количеством дефектов для последующего использования их как нагрузочных центров, где в качестве загружаемых молекул использовался высокомолекулярный цианин 5 (Cu5), конъюгированный с бычьим сывороточным альбумином (BSA).

Материалы и методы

Материалы для изготовления микрофлюидного чипа (МФЧ): фоторезист SU-8 и полидиметилсилоксан (ПДМС, набор силиконовых эластомеров SYLGARD™ 184, Dow Corning, США), состоящий из двух частей: основы силиконового эластомера (основа ПДМС) и отвердителя. Стеклоподложка (Menzel Microscope Coverslips).

Материалы для синтеза частиц HKUST-1: лигандом является тримезиновая кислота, также известная как бензол-1,3,5-трикарбоновая кислота, H_3BTC , ТМА (95 %), в качестве соли металла использовался $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, в качестве растворителя – N,N-диметилформамид (DMF).

В качестве загружаемых биомолекул использовался высокомолекулярный цианин 5 (Cy5), конъюгированный с бычьим сывороточным альбумином (BSA). (BSA, 66 кДа), где в качестве растворителя использовался диметилсульфоксид (DMSO, MW = 78,13).

Методы: для изготовления МФЧ была сделана мастер-форма методом фотолитографии с использованием кремниевой пластины и фоторезиста SU-8. Далее неотвержденный ПДМС с соотношением 10:1 эластомерной основы к отвердителю смешивали и заливали в мастер-форму, а затем полимеризовали при 80 °С в течение 2 ч. После этого в реплике ПДМС были проделаны входные/выходные отверстия и реплика ПДМС была запечатана на стеклянной подложке с помощью обработки O_2 -плазмой. Далее 1,67 ммоль $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (98 %) добавляли в 10 мл DMF и подвергали ультразвуковому перемешиванию в течение 15 мин. Аналогично, 1,13 ммоль H_3BTC добавляли в 10 мл DMF и также подвергали ультразвуковому перемешиванию в течение 15 мин. Для загрузки биомолекул 77 мг BSA смешивали с 20 мл фосфатного буфера, затем 5 мг Cy5 растворяли в 2,2 мл DMSO. Далее эти два раствора смешивали в течение 24 ч при 40 °С. Последним шагом являлось добавление 2 мл воды на каждые 10 мкл Cy5–BSA.

Описание установки для синтеза. Установка для синтеза состоит из нагревательной плиты (1), на которой было помещено микрофлюидное устройство (2). В микрофлюидное устройство были вставлены капилляры (3), которые, в свою очередь, были подключены к шприцевым насосам (4). Синтезированный материал собирался в специальный эппендорф (5), который располагался сбоку от нагревательной пластины. Штатив (6) был оснащен камерой (7) для оптической регистрации процессов, происходящих внутри микрофлюидного устройства. Увеличенное изображение микрофлюидного устройства (8).

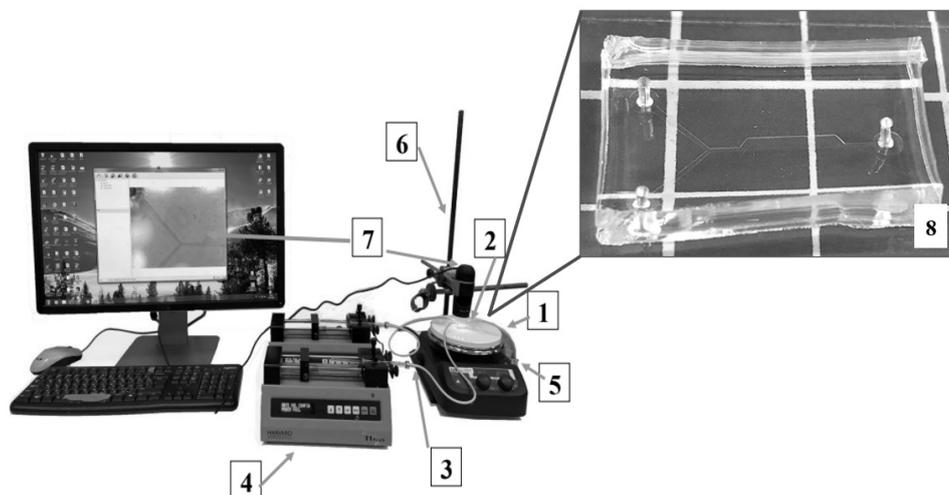


Рис. 1. Экспериментальная установка с увеличенным изображением микрофлюидного устройства

Результаты и дискуссия. Структуры были получены с помощью микрофлюидного подхода путем изменения расходов реактивов в каналах микрофлюидного устройства. Использовалась топология с двумя соединяющимися каналами. В текущей работе были подобраны оптимальные параметры для синтеза: расход для органического лиганда 3,5 мкл/мин, расход для соли меди – 3 мкл/мин [1]. Оптимальное мольное соотношение между реагентами 3:2 [2]. Для изучения морфологии полученных структур был проведен анализ с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), который показал, что полученные микрокристаллы имеют форму икосаэдра с характерными линейными размерами 0,14 до 2 мкм.

Порошковый рентгеноструктурный анализ показал, что с повышением температуры скорость образования микрокристаллов значительно увеличивается. Важным фактором, последо-

вавшим за этим, стало то, что монокристаллические свойства значительно снижались и наблюдалась агломерация полученных структур. При повышении температуры синтеза до 110 °С происходило уширение и уменьшение интенсивности пиков (200) и (220) вследствие увеличения аморфных свойств синтезированных структур и увеличения количества дефектов.

В связи с тем что дефекты в металлоорганических структурах являются неотъемлемой частью, необходимо выяснить положительные и отрицательные аспекты их влияния на результирующие свойства микрокристаллов и рассмотреть возможность использования дефектов в экспериментах по стабильности и молекулярной загрузке.

Для проверки возможности использования дефектов как активных центров для молекулярной загрузки был использован метод физической адсорбции. Важность возможности загрузки является фундаментальным фактором для оценки применимости металлоорганических структур в области целевой доставки лекарств. Высокомолекулярный цианин 5 (Cy5), конъюгированный с бычьим сывороточным альбумином (BSA), использовался в качестве загружаемых молекул. Для оценки эффективности адсорбции синтезированного CuBTC-1 микрокристаллы инкубировали в растворе Cy5–BSA при различных концентрациях (0,6...3 мкг/мл) в течение 1 ч. Изотермы адсорбции были построены с использованием уравнения Ленгмюра. Согласно полученной изотерме Ленгмюра можно заметить, что большое количество Cy5–BSA может быть адсорбировано на поверхности микрокристаллов HKUST-1. В качестве контрольных структур, были использованы металлоорганические каркасы, полученные стандартным сольвотермическим синтезом. Полученные данные показали, что загрузочная способность металлоорганических каркасов, полученных обоими методами, увеличивается до момента насыщения синтезированной структуры. Сравнение по загрузке показывает, что адсорбционные свойства для микрокристаллов, полученных микрофлюидным методом синтеза, выше примерно в 2 раза, чем для металлоорганических структур, полученных с помощью сольвотермического метода.

Заключение. Было создано микрофлюидное устройство для быстрого синтеза металлоорганических структур HKUST-1. Микрокристаллы HKUST-1 были синтезированы под влиянием различных температур. Структурная характеристика полученных структур была проведена с помощью СЭМ, порошковой рентгеновской дифракции и рамановской спектроскопии. Рамановские спектры показали наличие дефектов в структурах, что далее использовалось для повышенной молекулярной загрузки.

Благодарности

Часть работы, связанная с оптическими измерениями, была поддержана Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (проект № 075-15-2021-589). Часть работы, связанная с созданием микрофлюидного устройства, была поддержана Российским научным фондом (проект № 21-73-20189). Выражаем признательность за финансовую поддержку Российского научного фонда (проект № 22-72-10027) для проведения рамановского картирования. Порошковый рентгеновский анализ был проведен в Инжиниринговом центре СПбГУИТ. Работа частично выполнена в Центре «Нанотехнологии» ИТМО Core Facility. Часть работы была выполнена в Центре нанотехнологий СПбГУ. Измерения БЭТ проводились в ресурсном центре «Центр диагностики функциональных материалов для медицины, фармакологии и наноэлектроники» Научно-исследовательского парка СПбГУ.

Литература

1. Microfluidic synthesis of metal-organic framework crystals with surface defects for enhanced molecular loading / I. G. Koryakina, S. V. Bachinin, E. N. Gerasimova, M. V. Timofeeva, S. A. Shipilovskikh, A. S. Bukatin, A. Sakhatskii, A. S. Timin, V. A. Milichko, M. V. Zyuzin // *Chemical Engineering J.* 2023. № 452. P. 139450.
2. Seetharaj R. et al. Dependence of solvents, pH, molar ratio and temperature in tuning metal organic framework architecture // *Arabian journal of chemistry.* 2019. Vol. 12, № 3. P. 295–315.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ ИОННОГО ТРАНСПОРТА В ЕДИНИЧНЫХ ТВЕРДОТЕЛЬНЫХ НАНОПОРАХ

Н. В. Ваулин^{1,2*}, П. К. Афоничева², Д. В. Лебедев^{1,2,3}, А. С. Букатин^{1,2}

¹СПбАУ РАН им. Ж. И. Алфёрова, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 8 к. 3, лит. А

²Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург, 198095,
ул. Ивана Черных, д. 31-33, лит. А

³СПбГУ, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7-9

* nikitavaylin@mail.ru

Микрофлюидные технологии позволяют манипулировать малыми объёмами жидкостей с помощью наноструктур. Использование наноразмерных каналов и пор позволяет осуществлять детектирование и анализ малых концентраций аналита [1]. Подобные наноструктуры также применяются в областях химического разделения растворов и преобразования энергии [2]. Важной особенностью детектирования с помощью нанопор является возможность обнаружения отдельных молекул [3], что позволяет широко применять микрофлюидные технологии в приложениях для секвенирования ДНК [4]. Принцип нанопорового детектирования заключается в движении через пору раствора аналита малой концентрации. Обычно в качестве раствора используется электролит, что позволяет управлять движением жидкости через пору посредством приложения к ней разности потенциалов. При прохождении жидкости через нанопору молекулы аналита перекрывают её, препятствуя потоку ионов электролита. В результате чего фиксируется так называемый ток блокады – скачкообразное изменение величины тока. Чем ближе диаметр молекулы аналита к диаметру нанопоры, тем больше фиксируемое изменение тока. Таким образом, с помощью измерения тока, текущего через нанопору, становится возможным детектирование и анализ отдельных молекул.

Для исследования ионного транспорта в тонких (40 нм) SiN-мембранах были сформированы нанопоры диаметром 5 нм. Процесс изготовления нанопоры состоит из двух этапов: на первом этапе с помощью многоступенчатого травления формируется тонкая «свободно висящая» SiN-мембрана; на втором этапе в мембране методом литографии сфокусированным электронным пучком формируется нанопора. Перед проведением измерений исследуемый образец с нанопорой подвергается очистке в растворе пирании и деионизованной воде. Схема проведения электрических измерений нанопоры представлена на рис. 1.

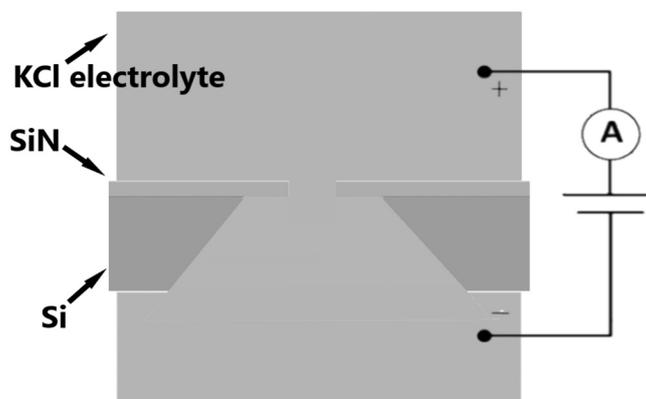


Рис. 1. Схема экспериментальной установки

Два объема электролита соединены через нанопору в SiN-мембране. В каждый объем электролита помещается измерительный электрод. Объемы электролита представляют собой половинки фотополимерной измерительной ячейки, напечатанной на 3D-принтере (FormLabs). Для герметичной фиксации нанопоры между половинками ячейки и измеряемым

образцом вставляются PDMS-прокладки. Далее половинки ячейки крепятся друг к другу с помощью болтов, а объемы заполняются раствором электролита. Измерительные электроды, представляющие собой AgCl/Ag-проволоки, помещаются в специальные отверстия в ячейке. Измерения проводятся в водном растворе KCl, в диапазоне концентраций от 10^{-4} М до 1М. Для улучшения смачиваемости поверхности нанопоры в раствор KCl добавляется изопропиловый спирт (IPA) в пропорции 1:1. IPA выступает в роли поверхностно-активного вещества, уменьшающего поверхностное натяжение раствора.

Для исследования ионного транспорта в нанопоре необходимо провести измерения тока в потенциостатическом двухэлектродном режиме. Измерения проводятся в диапазоне напряжений от -0.3 до 0.3 В, с шагом 0.1 В. В течение 5 мин к системе прикладывается заданное напряжение, при этом фиксируется значение тока насыщения. По полученным данным строятся вольт-амперные характеристики (ВАХ) для данной концентрации электролита. После получения ВАХ для всего диапазона концентраций становится возможным рассчитать зависимость проводимости нанопоры от концентрации электролита.

Приведенный метод исследования ионного транспорта в единичных твердотельных нанопорах позволяет лучше понять характеристики двойных электрических слоёв вблизи стенок поры. Это необходимо для дальнейшего исследования молекулярного транспорта в нанопорах.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 20-74-10117).

Литература

1. Xue, Liang, et al. Solid-state nanopore sensors // *Nature Reviews Materials*. 2020. Vol. 5.12. P. 931–951.
2. Sparreboom, Wouter, Albert van den Berg, and Jan CT Eijkel. Principles and applications of nanofluidic transport // *Nature nanotechnology*. 4.11. 2009. 713–720.
3. Spitzberg, Joshua D., et al. Plasmonic nanopore biosensors for superior single-molecule detection // *Advanced Materials*. 2019. Vol. 31.23. P. 1900422.
4. Simpson, Michael. Sequencing of human genomes with nanopore technology // *Nature Communications*. 2019.

ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ЭЛЕКТРОЛИТА НА ПРОВОДИМОСТЬ ТВЕРДОТЕЛЬНОЙ НАНОПОРЫ

П. К. Афоничева^{1*}, Н. В. Ваулин², Д. В. Лебедев^{1,2,3}, А. С. Букатин^{1,2}

¹Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург, 198095,
ул. Ивана Черных, д. 31-33, лит. А

²Академический университет им. Ж. И. Алфёрова, Санкт-Петербург, 194021,
ул. Хлопина, д. 8, к. 3, лит. А

³Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 199034,
Университетская набережная, д. 7/9
*polina.afonicheva@gmail.com

Нанопоры и наноканалы представляют собой универсальную структуру, которую можно найти как в живых системах, так и в искусственных материалах. Манипулирование нанобъемами жидкости обладает рядом уникальных свойств, таких как сверхвысокое отношение поверхности к объему и масштабы, сопоставимые с диапазоном различных поверхностных/межфазных сил и размеров биомолекул (ДНК, РНК, белки). Это позволяет исследовать новые явления переноса, которые происходят только на наноуровне [1].

Нанопоры используются для безметочного обнаружения и анализа нуклеиновых кислот (ДНК, РНК) [2] и белков [3], а применение может варьироваться от биодатчиков до секвенирования. При детектировании одиночных молекул нанопорой получают длинные прочтения последовательности ДНК и исключается этап предварительной амплификации методами ПЦР, обеспечивая высокую скорость исследования. Одномолекулярному методу характерна высокая чувствительность и специфичность, что позволяет обнаруживать одиночные молекулы на уровне одного нуклеотида, повышая тем самым точность исследования. Так, теоретические и экспериментальные исследования транспорта в нанопорах (наноканалах) представляют фундаментальный интерес и могут быть применены в разработке принципиально новых приборов.

Для исследования переноса ионов в твердотельных нанопорах были синтезированы образцы, содержащие тонкие мембраны SiN с нанопорами. Методы электронной и ионной литографии позволяют создавать нанопоры с заданной геометрией и заданными проводящими свойствами. Такие структуры являются оптимальной модельной системой для изучения переноса ионов.

Для экспериментов, посвященных изучению ионного транспорта, разработана измерительная ячейка. Ячейка распечатана на 3D-принтере FormLabs с использованием фотополимера clear v4. Ячейка состоит из двух объемов для электролита, разделенных непроницаемой мембраной SiN с единичной нанопорой.

Измерения проводились в водном растворе KCl, варьируя концентрации от 10^{-4} до 1 М. Для определения ионной проводимости поры были измерены вольт-амперные характеристики системы в потенциостатическом двухэлектродном режиме. Приложенное напряжение варьировалось от $-0,3$ до $0,3$ В в течение 8 мин при заданном напряжении. Далее, согласно полученным данным, были получены значения проводимости нанопор для диапазона концентраций электролита (рис. 1).

Согласно результатам в диапазоне концентраций $10^{-4} \dots 10^{-3}$ М проводимость практически не изменяется и остается на одном уровне. При концентрации $10^{-3} \dots 1$ М проводимость увеличивается с увеличением концентрации, так при достижении концентрации 1 М проводимость увеличивается на два порядка. Это связано с тем, что при низких концентрациях рабочего раствора двойные электрические слои перекрываются внутри поры. Расчетная ширина двойного электрического слоя для данных концентраций является порядка $10^{-7} \dots 10^{-8}$ м. Однако при высоких концентрациях рабочего раствора проводимость увеличивается, потому что толщина двойных электрических слоев уменьшается (для 1М раствора толщина двойного электрического слоя 2 нм) и перекрытие исчезает.

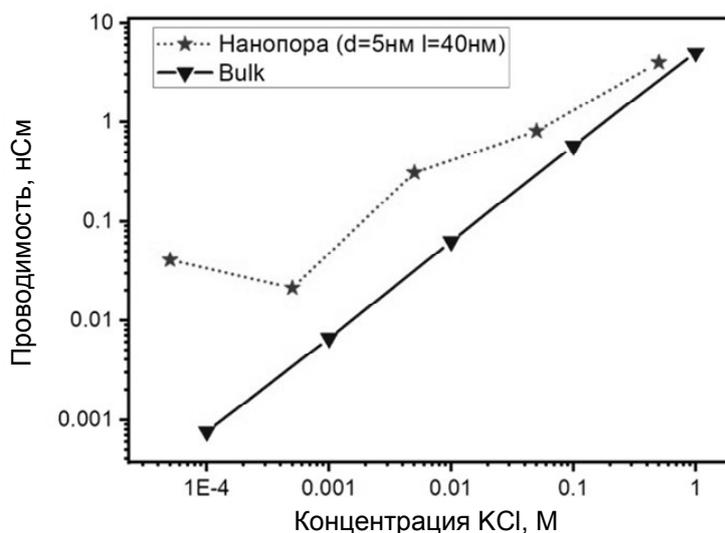


Рис. 1. Зависимости экспериментально измеренной проводимости нанопоры и теоретической объемной проводимости раствора KCl от концентрации электролита

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 20-74-10117).

Литература

1. Medina-Sánchez M. et al. Enhanced detection of quantum dots labeled protein by simultaneous bismuth electrodeposition into microfluidic channel // *Electrophoresis*. 2016. Vol. 37, № 3. P. 432–437.
2. Kurita R., Niwa O. Microfluidic platforms for DNA methylation analysis // *Lab Chip*. 2016., Vol. 16, № 19. P. 3631–3644.
3. Hou X., Guo W., Jiang L. Biomimetic smart nanopores and nanochannels // *Chem Soc Rev*. 2011. Vol. 40, № 5. P. 2385.

НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫЕ БИОЭЛЕКТРОДЫ. ДОСТОИНСТВА И НЕДОСТАТКИ

Ф. М. Дубина^{1*}, А. А. Абелит¹, Н. А. Бойцова¹, А. И. Лихачёв², А. В. Нащёкин²,
Д. Д. Ступин¹

¹Санкт-Петербургский Академический университет РАН им. Ж. И. Алфёрова,
Санкт-Петербург

²Физико-технический институт им. А. Ф. Иоффе, ЦФН, Санкт-Петербург
*filipp.dubina@gmail.com

Бурное развитие биоэлектроники в последние три десятилетия привело к не менее бурному внедрению ее достижений как в прикладную биологию, так и в практическую медицину [1–4]. В частности, на сегодняшний день биоэлектронные датчики на глюкозу (глюкометры), заметно облегчают жизнь пациентов, страдающих сахарным диабетом [3], а ретинальные протезы позволяют частично вернуть зрительные ощущения пациентам с поражениями сетчатки [4]. Кроме того, появление биоэлектронных цитосенсоров [1, 2] открыло новую нишу в биологических исследованиях и позволило проводить исследования в области фармакологии, онкологии и вирусологии на принципиально новом уровне [1, 2]. Очевидно, что дальнейший прогресс в области биоэлектроники будет во многом определяться исследованиями, направленными на поиск оптимальной конфигурации так называемых биоэлектродов, представляющих собой интерфейс металл/живые клетки. В настоящей работе мы провели сравнительный анализ коммерчески доступных биоэлектродов, часть из которых обладала наноструктурированным покрытием (НСП), а часть – нет. В результате мы обнаружили, что использование НСП, с одной стороны, позволяет увеличить чувствительность и помехозащищенность импедансных биосенсоров на их основе, а с другой стороны, применение НСП усложняет эквивалентную схему биоэлектродов и тем самым затрудняет интерпретацию получаемых с их помощью данных. В то же время нами было установлено, что планарные электроды обладают простой эквивалентной схемой и большей совместимостью с оптическими методами исследования, чем электроды с НСП, а проблему влияния шумов на их работу можно решить программными методами [1]. Таким образом, исходя из результатов данной работы можно сделать вывод о том, что для создания узкоспециализированных биосенсоров предпочтительно использовать электроды с НСП, в то время как для создания многофункциональных биодатчиков рационально применять планарные, плоские электроды. Мы надеемся, что результаты нашего исследования помогут сделать новые шаги в области биосенсорной инженерии и решить ряд актуальных задач здравоохранения.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (проект FSRM-2020-0006).

Литература

1. Stupin D. D., Kuzina E. A., Abelit A. A. et al. *ACS Biom. Sci. & Eng.* 2021. Vol. 7.6. P. 1962–1986.
2. Martinsen, Orjan G., and Sverre Grimnes. *Bioimpedance and bioelectricity basics.* 2011.
3. Bruen, Danielle, et al. *Sensors.* 2017. Vol. 17.8. P. 1866.
4. Нероев, В. В., Астахов, Ю. С., Лобанова, М. М., Ступин, Д. Д., et. al. *РОЖ.* 2018. № 11(S3). С. 3–27.

ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОДИСКОВЫХ ЛАЗЕРОВ С ОПТИЧЕСКИ СВЯЗАННЫМ ВОЛНОВОДОМ

Н. А. Фоминых^{1,2*}, Э. И. Моисеев^{1,2}, Н. В. Крыжановская^{1,2}, М. М. Кулагина³,
С. А. Минтаиров³, Н. А. Калюжный³, Р. А. Хабибуллин^{4,5}, Р. Р. Галиев⁴, А. Ю. Павлов⁴,
К. Н. Томош⁴

¹*Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики»,
Санкт-Петербург, 190121, ул. Союза Печатников, д. 16*

²*Алфёровский университет, Санкт-Петербург, 194021, ул. Хлопина, д. 8/3*

³*ФТИ им. А. Ф. Иоффе, Санкт-Петербург, 194021, Политехническая ул., д. 26*

⁴*ИСВЧПЭ им. В. Г. Мокерова РАН, Москва, 117105, Нагорный проезд, д. 7*

⁵*НИУ МФТИ, Долгопрудный, 141701, Институтский пер., д. 9*

* fominy-nikita@yandex.ru

Полупроводниковые микролазеры с резонатором дисковой формы являются перспективными кандидатами для создания на их основе энергоэффективных и малогабаритных источников когерентного излучения [1]. Моды шепчущей галереи (МШГ), поддерживаемые в резонаторах данной геометрии, обладают высокой добротностью (до десятков миллионов для Si МШГ-резонаторов, до 10^5 для AzV5-микролазеров диаметром около 30 мкм) и малым объемом моды [2]. При этом МШГ-чувствительны к изменениям и возмущениям среды, окружающей резонатор, а их поле благодаря распространению за боковые пределы микрорезонатора на дистанцию 10...100 нм делает возможным взаимодействие с материалами вне пределов резонатора [3]. Таким образом, МШГ-микрорезонаторы крайне привлекательны для создания сенсоров биомаркеров, ДНК и белков в низких концентрациях, а также для детектирования вирусов и наночастиц с одночастичным разрешением.

За счет аксиальной симметрии резонатора микродисковые (МД) лазеры не обладают выделенным направлением в диаграмме направленности выходного излучения. Их высокая добротность приводит к сильной локализации мод в объеме резонатора и малым потерям на вывод излучения. Для успешной реализации приборов на микролазерах с резонатором дисковой формы необходим эффективный направленный вывод излучения. Такой вывод излучения МШГ-микролазеров может быть достигнут различными модификациями МД-резонаторов, например малым гармоническим возмущением поверхности резонатора [5] или использованием сквозного отверстия в резонаторе вблизи его края [6]. Однако данные модификации также могут негативно влиять на такие характеристики микролазера, как порог лазерной генерации и добротность. Эффективным способом реализации направленного излучения МД-лазеров также является оптическая связь с другими оптическими элементами, например с магистральным волноводом (диэлектрическим или полупроводниковым) [7]. При этом данная конфигурация является планарной и достаточно легко реализуется на интегральной микросхеме.

В данной работе выполнено исследование вывода излучения полупроводниковых МД-лазеров в сопряженный волновод, сформированный из той же эпитаксиальной гетероструктуры в планарной геометрии. Исследуемые гетероструктуры получены методом МОС-гидридной эпитаксии на подложке n^+ -GaAs. В качестве активной области были использованы 5 слоев InGaAs/GaAs квантовых яма-точек. Электронная литография и плазмохимическое травление применялись для формирования волноводов и МД-резонаторов (диаметром 15...40 мкм), а также узких зазоров между ними (0...200 нм). Изучался вывод излучения в прямоугольные волноводы с различной величиной зазора, и волноводы с секцией, огибающей МД-лазер (углы огибания составляли 20 и 45°). Выполнено исследование спектров электролюминесценции и порога лазерной генерации при комнатной температуре в зависимости от параметров пристыкованного волновода. Проведено исследование эффективности вывода излучения в волновод в зависимости от параметра связи МД-волновод.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 18-12-00287, <https://rscf.ru/project/18-12-00287/>.

Литература

1. Kryzhanovskaya N. V. et al. Evaluation of energy-to-data ratio of quantum-dot microdisk lasers under direct modulation // *J. of Applied Physics*. 2019. Vol. 126, № 6. P. 063107.
2. Городецкий М. Л. Оптические микрорезонаторы с гигантской добротностью. М.: Физматлит, 2011. 416 с.
3. Крыжановская Н. В. и др. Микрооптопара на базе микродискового лазера и фотодетектора с активной областью на основе квантовых ям-точек // *Письма в журн. техн. физики*. 2020. Т. 46, № 13. С. 7–10.
4. Dantham V. R. et al. Taking whispering gallery-mode single virus detection and sizing to the limit // *Applied Physics Letters*. 2012. Vol. 101, № 4. P. 043704.
5. Liew S. F. et al. Active control of emission directionality of semiconductor microdisk lasers // *Applied Physics Letters*. 2014. Vol. 104, № 23. P. 231108.
6. Tian Z. N. et al. Single-mode unidirectional microcavity laser // *Optics Letters*. 2017. Vol. 42, № 8, P. 1572–1575.
7. Choi S. J. et al. Microdisk lasers vertically coupled to output waveguides // *IEEE Photonics technology letters*. 2003. Vol. 15, № 10. P. 1330–1332.

ВЫБОР СПОСОБА ЗАГРУЗКИ КОМПЛЕКСОВ ДНК-ПОЛИМЕРАЗА В НАНОКОЛОДЦЫ ДЛЯ ОДНОМОЛЕКУЛЯРНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ

А. Ю. Ямановская^{1,2*}, Д. А. Белов²

¹Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург

²Институт аналитического приборостроения РАН,

Санкт-Петербург, 198095, ул. Ивана Черных, д. 31-33, лит. А

*a.yamanovskaya@gmail.com

Одномолекулярное секвенирование в реальном времени (Single molecule real time sequencing, SMRT) впервые было запатентовано и коммерциализировано компанией Pacific Biosciences of California, Inc. (PacBio) [1, 2]. Секвенирование – это определение последовательности расположения азотистых оснований нуклеиновых кислот (А, Т, G и С) в полинуклеотиде. Одномолекулярное секвенирование отличается от классических методов тем, что не требует этапа амплификации при пробоподготовке и позволяет анализировать единичные молекулы ДНК.

В технологии SMRT комплексы ДНК-полимераза загружаются для последующего анализа в наноколодцы (zero-mode waveguides – ZMW), представляющие собой световоды нулевой моды глубиной 100 нм и диаметром 70...150 нм [3–7]. Их освещают лазерами со стороны прозрачной подложки, при этом интенсивность излучения экспоненциально затухает и проникает в наноколодец на высоту около 20 нм [3]. В первых выпущенных проточных ячейках для SMRT количество ZMW достигало 150 тыс. (2000 на 1,6 мкм) [5], в новейших моделях ячеек количество ZMW достигает 8 млн.

Целью данной работы является выбор способа загрузки комплексов ДНК-полимераза в наноколодцы для применения в разрабатываемом аппаратно-программном комплексе одномолекулярного секвенирования (АПКОС), реализующего технологию SMRT.

Существует несколько способов загрузки: путем пассивной диффузии, электрофоретическая загрузка [3, 8–10], метод с использованием капсидов [11] и магнитных шариков (magnetic beads) [11].

Успешное SMRT-секвенирование предполагает соблюдение следующих условий загрузки комплексов ДНК-полимераза в наноколодцы [12]:

- 1) обеспечение высокой эффективности загрузки (снижение времени загрузки и концентрации фрагментов ДНК);
- 2) загрузка единственного комплекса ДНК-полимераза в наноколодец;
- 3) обеспечение максимальной доли загруженных наноколодцев;
- 4) надежное закрепление комплекса ДНК-полимераза на дне наноколодца.

Среди представленных выделяется способ загрузки с использованием магнитных шариков, т. к. они просты в производстве, препятствуют загрузке коротких фрагментов ДНК длиной менее 1 тыс. пар нуклеотидов и позволяют использовать образцы с более низкой концентрацией (загрузка за 60 мин с концентрацией молекул ДНК 3...30 пМ по сравнению с загрузкой путем пассивной диффузии за 30...60 мин с концентрацией 80 пМ) [9]. В патентах компании PacBio описаны основные принципы загрузки наноколодцев [2, 11, 13]:

- 1) магнитные шарики переносят фрагменты ДНК, закрепленные по принципу комплементарности и связями биотина и стрептавидина [11];
- 2) под поверхностью чипа должен быть расположен магнит;
- 3) траектория вращения магнита должна обеспечивать плавное перемещение шариков по поверхности чипа.

Таким образом, установлено, что способ загрузки комплексов ДНК-полимераза в наноколодцы с помощью магнитных шариков является предпочтительным для реализации в разрабатываемом комплексе АПКОС, и выявлены основные принципы загрузки наноколодцев этим способом.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках проекта Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы (Соглашение № 075-15-2021-1057).

Литература

1. Бородинов А. Г. и др. Поколения методов секвенирования ДНК (обзор) // Науч. приборостроение. – 2020. – Т. 30, № 4. – С. 3–20.
2. Thang Pham, Arunashree Bhamidipati, Kevin Travers, Eric Olivares, Tyson A. Clark, Jonas Korlach, inventor; Pacific Biosciences Of California Inc, assignee. Loading extended polymerase-nucleic acid complexes. United States patent US 10934585 B2. 2021.
3. Farhangdoust F. et al. Rapid Identification of DNA Fragments through Direct Sequencing with Electro Optical Zero Mode Waveguides //Advanced Materials. – 2022. – Vol. 34, № 9. – P. 2108479.
4. Бессмельцев В. П. и др. О создании платформы для исследования нуклеиновых кислот (ДНК-секвенатора) //Прикладная фотоника. – 2016. – Т. 3, № 4. – С. 389–412.
5. Korlach J. et al. Selective aluminum passivation for targeted immobilization of single DNA polymerase molecules in zero-mode waveguide nanostructures //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2008. – Vol. 105, № 4. – P. 1176–1181.
6. Rhoads A., Au K. F. PacBio sequencing and its applications //Genomics, proteomics & bioinformatics. – 2015. – Vol. 13, № 5. – P. 278–289.
7. Hsieh C. F. et al. Improved fabrication of zero-mode waveguides for monitoring specific molecular dynamics in living cells //Nanoscale Imaging, Sensing, and Actuation for Biomedical Applications VIII. – SPIE, 2012. – Vol. 8231. – P. 124–130.
8. Larkin J. et al. Length-independent DNA packing into nanopore zero-mode waveguides for low-input DNA sequencing //Nature nanotechnology. – 2017. – Vol. 12, № 12. – P. 1169–1175.
9. Larkin J. et al. Reversible positioning of single molecules inside zero-mode waveguides //Nano letters. – 2014. – Vol. 14, № 10. – P. 6023–6029.
10. Jadhav V. et al. Porous zero-mode waveguides for picogram-level DNA capture // Nano letters. – 2018. – Vol. 19, № 2. – P. 921–929.
11. Stephen Turner, Benjamin Flusberg, Lei Sun, inventor; Pacific Biosciences Of California Inc, assignee. Single molecule loading methods and compositions. United States patent US 9993794 B2, 2018.
12. Ardui S. et al. Single molecule real-time (SMRT) sequencing comes of age: applications and utilities for medical diagnostics //Nucleic acids research. – 2018. – Vol. 46, № 5. – P. 2159–2168.
13. Meni Wanunu, Jonas Korlach, Mathieu Foquet, Stephen Turner, inventor; Northeastern University China, Pacific Biosciences of California Inc., assignee. Nanopores in zero mode waveguides. United States patent US 9267917 B2, 2011.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЦИФРОВОЙ ОБРАБОТКИ СИГНАЛОВ ДЛЯ АНАЛИЗА ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ОТ ЯЧЕЕК ZMW ОДНОМОЛЕКУЛЯРНОГО СЕКВЕНАТОРА ДНК

А. А. Дубовик^{1*}, А. И. Петров²

¹Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург

²Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург, 198095,

ул. Ивана Черных, д. 31-33, лит. А

* chernay2001@list.ru

С развитием технологий секвенирования возникает потребность в анализе и цифровой обработке полученных данных. Эту задачу предлагается решить при помощи вейвлет-анализа [2] или полосового фильтра.

Особенность конструкции ZMW-ячейки позволяет наблюдать люминесценцию единичной флуоресцентной метки, пришитой к нуклеотиду в момент встраивания ДНК-полимеразой. Соответственно, к четырём типам нуклеотидов пришиты разные флуоресцентные метки, что позволяет различать их. Таким образом, при полимеризации цепи ДНК можно получить зависимость интенсивности флуоресценции от времени. Из анализа таких временных рядов по всем каналам флуоресценции получается последовательность нуклеотидов в молекуле ДНК [1].

За основу были взяты данные, получаемые на одномолекулярных секвенаторах фирмы PacBio. Для моделирования подобных сигналов в ИАП РАН была разработана программа Project_SMRT, полностью имитирующая работу системы регистрации сигналов люминесценции от ячеек ZMW. Программа выдает четыре временных последовательности, соответствующие каналам регистрации люминесценции нуклеотидных оснований. Рассматривается не вся последовательность, а только один из каналов, на примере обработки сигналов по первому каналу – аденину (рис. 1. а), приведен последующий алгоритм фильтрации.

В среде MathLab построен фурье-спектр (рис. 1, б). По внешнему виду полученный спектр имеет схожие с фурье-спектром прямоугольного сигнала характерные пики огибающей, но при этом «главный» пик разделен на несколько в полосах приблизительно 1...100, 350...650 и 1200...1400 Гц.

Было проведено моделирование трех полосовых фильтров типа «Баттерворт». Для обработки сигналов был применен следующий алгоритм [3]:

1. Расчет фурье-спектра входного сигнала (одного из каналов регистрации).
2. Расчет фурье-образа полосового фильтра.
3. Применение полосового фильтра с получением фурье-спектра выходного сигнала.
4. Обратное преобразование Фурье для получения временной последовательности выходного сигнала.

Были проверены три фильтра.

Первый построенный фильтр имеет полосу пропускания 1...1400 Гц. Величина отфильтрованного сигнала уменьшается, но все равно превышает 50 %. Однако из-за эффекта сглаживания два пика могут слиться друг с другом, что приведет к ошибке при считывании. Уровень шума в сигнале тоже велик.

Второй фильтр имеет две полосы пропускания: 1...1400 и 2800...3100 Гц и учитывает не только «главный» пик, но и следующий за ним. Это позволяет «обострить» фильтрацию, но исходный сигнал зашумляется высокочастотными помехами.

Третий фильтр с полосами пропускания 1...150, 400...700 и 1100...1500 Гц. Отфильтрованный сигнал избавлен от части низкочастотных помех (рис. 1, в). Причем по сравнению с первым фильтром величина сигнала уменьшается незначительно, что позволяет выделить из шума основной сигнал. Полученный спектр представлен на рис. 1, г.

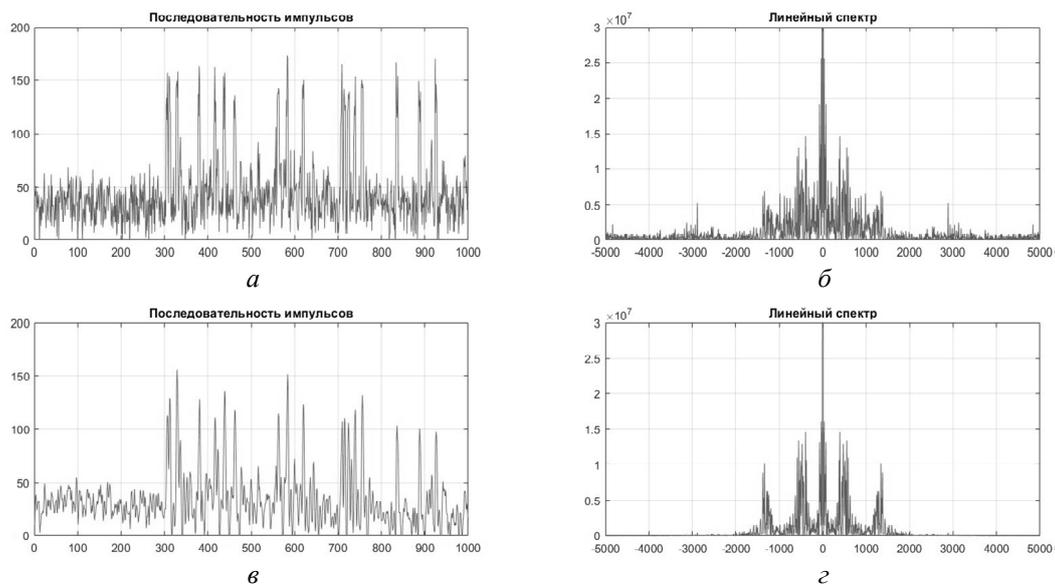


Рис. 1. Сигнал, порождаемый аденином (а); спектр сигнала, порождаемого аденином (б); отфильтрованный сигнал (в); спектр отфильтрованного сигнала (г)

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках проекта Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы (Соглашение № 075-15-2021-1057).

Литература

1. Поколения методов секвенирования ДНК (обзор) / А. Г. Бородинов, В. В. Манойлов, И. В. Заруцкий, А. И. Петров, В. Е. Курочкин // Науч. приборостроение. 2020. Т. 30, № 4. С. 3–20.
2. Система фильтрации данных микромассива ДНК на основе вейвлет-анализа и критерия энтропии / С. А. Бабичев, Хендауй Аль, Али Юзеф, В. И. Литвиненко // Вестн. ХНТУ. 2015. № 3 (54). С. 203–209.
3. Цифровая обработка сигналов / под ред. Л. М. Гольденберга, Б. Д. Матюшкина, М. Н. Поляка. М.: Радио и связь, 1990. С. 74–138.

ПЕРВИЧНЫЙ АНАЛИЗ ДАННЫХ ОДНОМОЛЕКУЛЯРНОГО СЕКВЕНАТОРА ДНК

А. Г. Бородин, А. С. Сараев*, А. И. Петров

Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург, 198095,
ул. Ивана Черных, д. 31-33, лит. А
* alex.niispb@yandex.ru

В настоящее время консорциумом во главе с Институтом аналитического приборостроения Российской академии наук (ИАП РАН) разрабатывается аппаратно-программный комплекс одномолекулярного секвенирования (АПКОС). Прибор предназначен для определения последовательности нуклеотидов молекулы ДНК в реальном времени. В основе метода лежит использование наноклодцев Zero-mode waveguide (ZMW) – углублений диаметром несколько десятков нанометров, ко дну которых прикреплена единичная молекула ДНК-полимеразы.

Этап первичного анализа (Primary Analysis) занимает место между стадиями регистрации оптического сигнала в АПКОС и проведение так называемого вторичного анализа (Secondary Analysis) для решения биоинформационных задач на основе полученных прочтений (ридов). Этап первичного анализа (рис. 1) включает в себя [1]:

- обработку сигналов на стадии Фильма (Movie) для сохранения в виде Трассировки (Trace) для каждого колодца ZMW в реальном времени;
- выделение артефактов Пульсов (Pulses) из Трассировки (Traces) в качестве информации для идентификации нуклеотидных оснований (стадия Trace-to-Pulse);
- стадию base calling для определения последовательности нуклеотидов из полученных Пульсов (стадия Pulse-to-Base);
- уточнение последовательности нуклеотидов при режиме циклического чтения Circular Consensus.

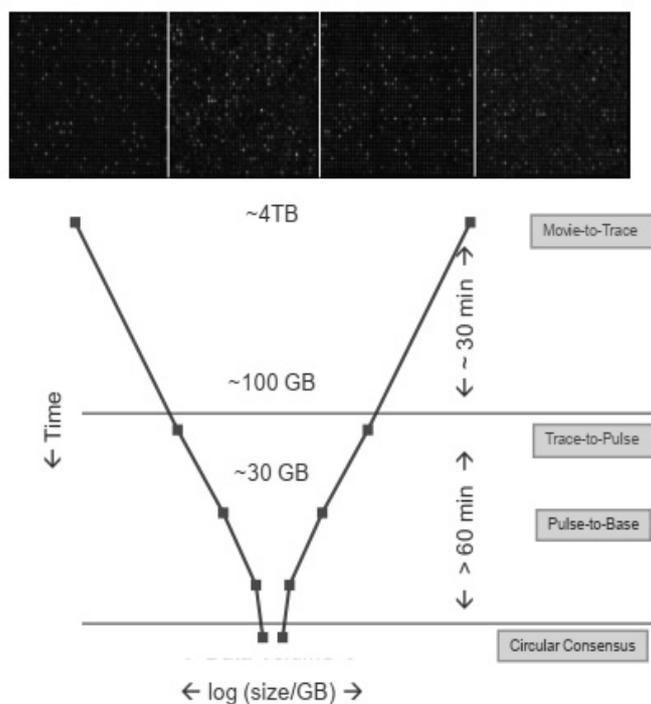


Рис. 1. Стадии первичного анализа

Этап перехода от Фильма к Трассировкам (стадия Movie-to-Trace) моделируется программой, разработанной в ИАП РАН, на выходе которой получаем набор Трассировок в различных каналах флуоресценции для заданной нуклеотидной последовательности.

Целью работы является рассмотрение алгоритмов и параметров для обработки данных на стадиях Trace-to-Pulse и Pulse-to-Base. Класс рассмотренных алгоритмов на стадии Trace-to-Pulse принадлежит области change detection (статистический анализ обнаружения изменений) [2]. В качестве основного метода выбрана комбинация стандартизированной z-оценки – меры относительного разброса наблюдаемого или измеренного значения и экспоненциально взвешенного скользящего среднего [3].

На выходе из стадии Trace-to-Pulse получаем набор Пульсов по каждой из четырех Трассировок с набором параметров (интенсивность, ширина и расстояние между пиками). На следующей стадии нам необходимо синхронизировать эту информацию по всем трассировкам и вынести суждение о доминирующем канале флуоресценции (стадия Pulse-to-Base). В качестве критерия качества работы алгоритмов служат меры близости нуклеотидных последовательностей на входе программы моделирования и на выходе (стадия base calling).

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках проекта Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы (Соглашение № 075-15-2021-1057).

Литература

1. PacBio® RS II Workflow. Available at: <https://www.pacb.com/wp-content/uploads/2015/09/PacBioWorkflow.pdf>
2. van den Burg, Gerrit J. J.; Williams, Christopher K. I. (May 26, 2020). "An Evaluation of Change Point Detection Algorithms". arXiv:2003.06222
3. Brakel, J.P.G. van (2014). "Robust peak detection algorithm using z-scores". Stack Overflow. Available at: <https://stackoverflow.com/questions/22583391/peak-signal-detection-in-realtime-timeseries-data/22640362#22640362>

ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДИКИ ПРЯМОГО ИЗМЕРЕНИЯ pH УЧАСТКОВ КОЖИ

Н. Д. Пономарёв, А. М. Паршуков*, В. В. Романова, А. Ю. Зайцева

*Институт аналитического приборостроения РАН,
Санкт-Петербург, 198095, ул. Ивана Черных, д. 31-33, лит. А*

*Anton.Parshukov@spcru.ru

С начала 2000-х годов pH поверхности кожи и его поддержание стали связывать с важной ролью в целостности и сцеплении рогового слоя, а также в регуляции гомеостаза эпидермального барьера и механизмов антимикробной защиты [1, 2]. Известно, что pH поверхности кожи влияет на растворение и разделение химических веществ и может оказывать воздействие, которое приводит к кожным заболеваниям. Однако в ранее проводимых исследованиях методике измерения pH кожи не было уделено достаточного внимания, а сам процесс снятия данных является достаточно трудоёмким [3, 4].

Проведён поиск наиболее простой методики получения данных о состоянии кожи человека. Была в значительной степени упрощена классическая методика, что позволит избежать грубых ошибок при измерении pH кожи.

Введение. У классической прямой методики измерения есть ряд недостатков:

- 1) трудность нанесения воды только на исследуемую область кожи в некоторых анатомических положениях;
- 2) невозможность зафиксировать положение исследуемого участка для устранения движений тела, влияющих на точность измерений;
- 3) обязательное присутствие испытуемого при проведении непосредственных измерений.

Целью исследования является разработка методики, которая значительно упростила бы сбор данных о состоянии участка кожи человека и при этом давала бы аналогичные классической методике исследования результаты.

Задачи исследования:

1. Разработать техническое решение, позволяющее наносить фиксированный объём дистиллированной воды на изолированный участок кожи.
2. Разработать методику удаленного снятия проб и дальнейшего анализа в лаборатории.

Решение этих проблем позволит переключиться на исследование конкретных факторов, влияющих на pH кожи, и увеличить выборку людей, принимающих участие в исследовании.

Основная часть. Для измерений использовался стеклянный электрод и электрод сравнения, закреплённые на штативе, предварительно откалиброванные в буферных растворах pH = 4,01, pH = 6,86 [5]. Перед каждым измерением исследуемый участок кожи очищался сухой фильтровальной бумагой. После каждого измерения используемые приборы промывались дистиллированной водой и протирались фильтровальной бумагой [3, 4]. Исследуемые участки кожи не подвергались воздействию воды в течение 2...3 ч до начала измерений [5]. Для изолирования и фиксации участка кожи был использован пластмассовый полый цилиндр, в отверстие крышки которого подаётся вода. Было проведено две серии испытаний:

1. Дистиллированная вода наносилась шприцем в прибор, по прошествии 1 мин на кожу помещались электроды и в течение 2 мин фиксировались показания прибора.
2. Дистиллированная вода наносилась шприцем в прибор, по прошествии 1 мин проба забиралась чистым шприцем и исследуемая жидкость анализировалась с помощью электродов.

Для корректности сравнения двух серий испытаний брались соседние участки кожи левого предплечья.

Среднее значение рН исследуемых участков в двух сериях экспериментов $5,73 \pm 0,15$ ед., что говорит о высокой точности разрабатываемой методики [6, 7].

Заключение. Результаты экспериментов говорят о применимости методики на практике. Поскольку её внедрение не требует серьёзных технических улучшений по сравнению со старой методикой, а различия между полученными разными способами значениями незначительны, она может быть использована в любых исследованиях на измерение кислотно-щелочного баланса кожи. Предполагается возможность использования или модификации данной методики для определения концентраций других ионов, обеспечивающих нормальное функционирование организма.

Литература

1. Ali SM, Yosipovitch G: Skin pH: from basic science to basic skin care. *Acta Dermatol Venereol* 2013;93:261–267.
2. Fluhr JW, Elias PM: Stratum corneum pH: formation and function of the “acid mantle”. *Exog Dermatol* 2002;1:163–175.
3. Stefaniak AB, du Plessis J, John SM, Eloff F, Agner T, Chou TC, Nixon R, Steiner MFC, Kudla I, Holness DL: International guidelines for the in vivo assessment of skin properties in non-clinical settings: part 1. pH. *Skin Res Technol* 2013;19:59–68.
4. Stefaniak AB, du Plessis JL: Biometrology guidelines for the in vivo assessment of skin surface pH in nonclinical settings; in Humbert P, et al. (eds): *Agache’s Measuring the Skin*, ed 2. Switzerland, Springer International, 2017, pp 925–932.
5. Parra JL, Paye M: EEMCO guidance for the in vivo assessment of skin surface pH. *Skin Pharmacol Skin Physiol* 2003; 16:188–202.
6. Agache P: Main skin physical Constants; in Humbert P, et al. (eds): *Agache’s Measuring the Skin*, ed 2. Switzerland, Springer International, 2017, pp 1607–1622.
7. Stefaniak AB, Harvey CJ. Dissolution of materials in artificial skin surface film liquids. *Toxicol In Vitro* 2006; 20: 1265–1283

РАЗРАБОТКА МИКРОФЛЮИДНОЙ СИСТЕМЫ СО ВСТРОЕННЫМИ ПНЕВМАТИЧЕСКИМИ КЛАПАНАМИ И МЕМБРАННЫМ НАСОСОМ

Е. И. Наумов ^{1*}, Н. А. Филатов ¹, А. С. Букатин ^{1,2}

¹СПбАУ РАН им. Ж.И. Алфёрова,

Санкт-Петербург, 194021, ул. Хлопина, 8, к. 3, лит. А

²Институт аналитического приборостроения РАН,

Санкт-Петербург, 198095, ул. Ивана Черных, д. 31-33, лит. А

*naumove2000@gmail.com

Введение. Одной из главных технологических тенденций XXI века является стремительная миниатюризация систем, механизмов и устройств, в результате чего стало актуальным направление разработки химических и биотехнологических систем, использующих как можно меньший объем жидкостей или реагентов. Ключевой задачей для разработки таких систем является создание устройств, способных с определенной точностью контролировать потоки жидкостей в микроканалах. Разработки в этом направлении позволят создавать новые поколения ПЦР-систем, систем клеточного анализа и других систем миниатюрного анализа и лаборатории на чипе. Микрофлюидные системы уже имеют широкое применение в химии и биотехнологии, но открытой остается задача управления движением жидкостей в микроканалах. Для решения такой задачи внутри чипа существует концепция микрофлюидных клапанов и мембранных насосов [1]. Эти функциональные элементы способны инициировать и прерывать поток жидкости в канале. В данной работе разработана согласованная и управляемая система мембранных насосов и клапанов, способная прокачивать жидкость внутри микроканалов в определенных заданных объемах.

Экспериментальная часть. В данной работе были разработаны и исследованы свойства разных топологий систем микрофлюидных клапанов и мембранных насосов, а также их взаимодействия с внешними системами управления, такими как микрофлюидный контроллер давления и автоматизированная система на базе Arduino. Устройство представляет собой микрофлюидный чип с 3 или 5 слоями PDMS, отлитыми по предварительно спроектированным и изготовленным на лазерном станке мастер-формам. Слои чипа соединены таким образом, чтобы при помощи системы пневматических каналов воздействовать на PDMS-мембрану толщиной 100 мкм. Мембрана, в свою очередь, взаимодействует со слоем жидкостных каналов таким образом, что жидкость сначала набирается в специальную камеру в мембранном насосе и затем выпускается из нее на выход чипа. Слои чипа были объединены с мембраной при помощи поверхностной обработки кислородной плазмой с последующей термической обработкой. В клапанах и насосе обработка плазмой не проводилась с целью избежать слипания слоя с мембраной.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках проекта Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы (Соглашение № 075-15-2021-1057).

Литература

1. Grover W. H. et al. Monolithic membrane valves and diaphragm pumps for practical large-scale integration into glass microfluidic devices //Sensors and Actuators B: Chemical. – 2003. – Vol. 89, № 3. – P. 315–323.
2. Bhattacharya S. et al. Studies on surface wettability of poly (dimethyl) siloxane (PDMS) and glass under oxygen-plasma treatment and correlation with bond strength //J. of microelectromechanical systems. – 2005. – Vol. 14, № 3. – P. 590–597.

ПОЛУЧЕНИЕ И ОЦЕНКА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ИНКАПСУЛИРОВАННЫХ КЛЕТКАМИ СФЕРИЧЕСКИХ МИКРОГЕЛЕЙ С ПОМОЩЬЮ КАПЕЛЬНОЙ МИКРОФЛЮИДИКИ ДЛЯ 3D-БИОПЕЧАТИ

П. С. Плешаков^{1*}, Н. А. Филатов¹, А. С. Букатин^{1,2}

¹СПбАУ РАН им. Ж. И. Алфёрова, Санкт-Петербург, 194021, ул. Хлопина, д. 8/3

²Институт аналитического приборостроения РАН,
Санкт-Петербург, 198095, ул. Ивана Черных, д. 31-33, лит. А

*avekip@gmail.com

Для эффективной разработки лекарств необходимы качественные модели искусственных органов и тканей. 3D-биопечать – технология послойного формирования сложной структуры органа [1]. Материалом служат биочернила – смесь из живых клеток, биосовместимого гидрогеля и вспомогательных веществ. Большинство используемых биочернил лишь частично соответствуют требованиям, необходимым для получения органа с достаточно сложной структурой и применимым в клинической практике [2]. Биочернила из гидрогелевых микрочастиц (микрогелевые биочернила) в отличие от жидких биочернил могут обеспечить биопечать с более высоким пространственным разрешением с сохранением высокоупорядоченной внутренней структуры [3]. Одним из наиболее подходящих способов для получения микрогелей являются микрофлюидные технологии. Микрофлюидика благодаря контролируемому управлению микропотоками жидкостей (объемы нанолитры – фемтолитры) дает возможность создавать микрокапли/микрочастицы из различных материалов с управляемыми свойствами (размер, объем, состав, морфология), в том числе и получение биочернил, состоящих из гидрогелевых микрочастиц [4]. В данной работе мы развивали микрофлюидную технологию генерации гидрогелевых микрочастиц, содержащих клетки, и изучали жизнеспособность и развитие клеток внутри микрогелей.

Для внедрения в микрогели использовали клеточную линию карциномы толстой кишки мыши СТ 26, экспрессирующую в цитоплазму зеленый флуоресцентный белок EGFP. В качестве гидрогеля использовали альгинат натрия, который сочетает в себе биосовместимость и способность к быстрой ионогенной полимеризации [5].

К центральной водной фазе подводили среду RPMI 1640 с содержащимися в ней клетками. Затем центральный поток объединялся со второй водной фазой, состоящей из предшественника альгинатного гидрогеля, который состоял из растворенного в среде RPMI 1640 2,5 %-го альгината натрия, к которому добавили 20 %-й водный раствор Ca-EDTA. Объединенный поток водной фазы эмульгировали в потоке перфторуглеродного масла в монодисперсные капли с помощью микрофлюидного генератора с фокусировкой потока, после чего вводили последний поток в сплошную фазу перфторуглеродного масла с уксусной кислотой и 1Н, 1Н, 2Н, 2Н-перфтор-1-октанол (ПФО). Ионы водорода из уксусной кислоты снижали pH и вызывали диссоциацию комплекса Ca-EDTA с последующим высвобождением ионов кальция, что приводило к сшиванию альгината. ПФО служил в качестве дестабилизатора эмульсии для перевода микрогелей из масляной фазы в водную.

После выхода из микрофлюидного чипа микрогели попадали в сливную пробирку, содержащую буферный раствор, который состоял из среды RPMI 1640, 25 мМ раствора HEPES, доведенного до pH 7,4 и 1 мМ CaCl₂. HEPES служил для нейтрализации вредного воздействия уксусной кислоты на клетки, а CaCl₂ – для придания микрочастицам дополнительной механической прочности.

Клетки, инкапсулированные в микрогелях, инкубировались в среде RPMI 1640 с добавлением 7 мМ CaCl₂ при 37 °С и 5 % CO₂ в течение 21 сут. Для оценки жизнеспособности использовался йодистый пропидий для окрашивания мертвых клеток (красный), белок EGFP, содержащийся в цитоплазме клеток, подсвечивал зеленым все клетки. Для оценки динамики развития клеточных кластеров использовался подсчет площади поверхности области с зеленой флуоресценцией на снимке с помощью программы ImageJ.

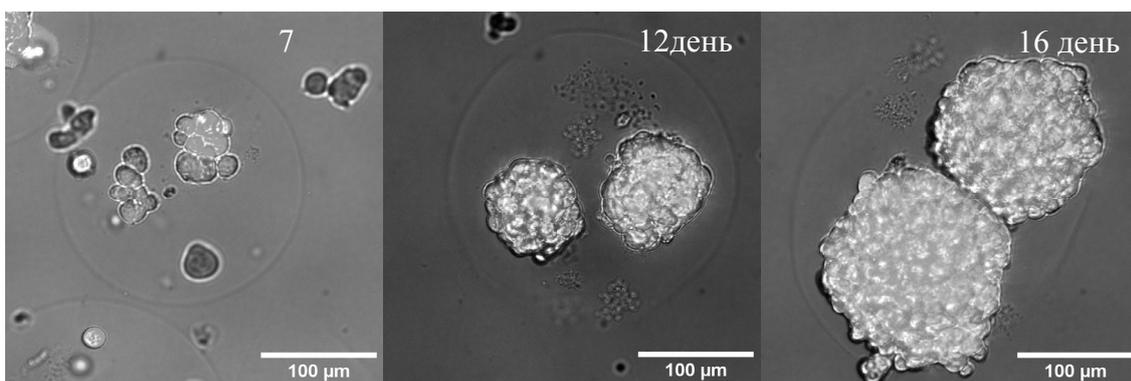


Рис. 1. Конфокальные микроскопические изображения клеток СТ26 EGFP, инкапсулированных в альгинатную микрочастицу, в разные промежутки времени развития *in vitro*

В результате был усовершенствован и отработан метод генерации альгинатных сферических микрогелей размером 200 мкм с инкапсулированными клетками с помощью микрофлюидного устройства, были оценены жизнеспособность клеток и динамика развития их в кластерах внутри микрогелевой частицы. Результаты работы показали, что данный подход позволяет получать альгинатные гидрогелевые микрочастицы, где клетки показывают жизнеспособность и пролиферативный потенциал, дальнейшие исследования будут направлены на более детальную оценку этих качеств и влияющих на них факторов.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 20 74 10117).

Литература

1. Gopinathan J., Noh I. Recent trends in bioinks for 3D printing //Biomaterials research. – 2018. – Vol. 22, № 1. – P. 1–15.
2. Chimene D. et al. Advanced bioinks for 3D printing: a materials science perspective //Annals of biomedical engineering. – 2016. – Vol. 44, № 6. – P. 2090–2102.
3. Feng Q. et al. Assembling Microgels via Dynamic Cross-Linking Reaction Improves Printability, Microporosity, Tissue-Adhesion, and Self-Healing of Microgel Bioink for Extrusion Bioprinting //ACS Applied Materials & Interfaces. – 2022. – Vol. 14, № 13. – P. 15653–15666.
4. Zhang L. et al. Microfluidic templated multicompartiment microgels for 3D encapsulation and pairing of single cells //Small. – 2018. – Vol. 14, № 9. – C. 1702955.
5. Axpe E., Oyen M. L. Applications of alginate-based bioinks in 3D bioprinting //Intern. j. of molecular sciences. – 2016. – Vol. 17, № 12. – C. 1976.

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ЭЛЕКТРОКОАЛЕСЦЕНЦИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СТЕПЕНИ ПОЛИМЕРИЗАЦИИ ГИДРОГЕЛЕВЫХ МИКРОЧАСТИЦ В МИКРОФЛЮИДНЫХ УСТРОЙСТВАХ

А. А. Тюшкевич^{1*}, Н. А. Филатов¹, А. С. Букатин^{1,2}

¹Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет им. Ж. И. Алфёрова РАН, Санкт-Петербург, 194021, ул. Хлопина, д. 8, к. 3, лит. А

²Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург, 198095, ул. Ивана Черных, д. 31-33, лит. А

* andre.tushkevich@gmail.com

Введение. В последнее время активно развивается область производства гидрогелевых микрочастиц [1]. Микрочастицы находят применение в качестве контейнеров для таргетной доставки лекарств, мРНК-вакцин, а также биочернил для 3D-печати тканей и органов. Одной из перспективных технологий формирования микрочастиц, позволяющей увеличить контроль за синтезом эмульсии, является капельная микрофлюидика [2]. Эта технология позволяет генерировать и производить операции над монодисперсными каплями водной эмульсии нанолитрового и пиколитрового объема. Такие капли служат шаблонами для производства полимерных микрочастиц разного состава, структуры и формы. В зависимости от приобретенных в процессе синтеза свойств полимерные микрочастицы могут использоваться в пищевой и косметической промышленности, биологии, медицине и науке о материалах [3–4]. Однако производство микрочастиц методом поточной эмульсии на базе технологий капельной микрофлюидики сталкивается с множеством проблем и ограничений, например, таких как поддержание стабильности эмульсии и проницаемость вещества через поверхность капля. Вследствие чего возникают ошибки и дефекты, влияющие как на физико-химические характеристики микрочастиц, так и препятствующие процессу генерации капель в микрофлюидном устройстве. Помимо этого при формировании микрочастиц с новыми физико-химическими свойствами возникает вопрос оптимизации параметров и задача контроля процесса полимеризации раствора гидрогеля. В данной работе разработан метод, позволяющий оценивать состояние микрочастиц *in situ* в микрофлюидном канале с помощью явления электрокоалесценции. Метод основан на эффекте дестабилизации слоя поверхностно-активного вещества на поверхности капля эмульсии в электрическом поле, что приводит к их последующему слиянию. Полностью полимеризованные микрочастицы при этом не будут сливаться друг с другом в связи с формированием жесткого каркаса.

Экспериментальная часть. В данной работе мы разработали метод оценки полимеризации гидрогелевых микрочастиц в процессе их синтеза в микрофлюидном устройстве с помощью эффекта электрокоалесценции. При наложении тонкого алюминиевого электрода с обратной стороны устройства, в зависимости от напряженности создаваемого электрического поля, удастся достигать локальной электрокоалесценции жидких капель эмульсии. Метод апробирован на микрочастицах из следующих гидрогелей: полиакриламид, полиэтиленгликоль диакрилата (PEGDA), альгинат. Выявленные различия в отклике полимеризованных микрочастиц на электрическое поле в зависимости от степени полимеризации геля позволяют качественно и количественно определять состояние полимеризации геля внутри микрочастиц. Для всех полимеров исследована скорость и эффективность сшивки в каплях эмульсии. Для альгината определены оптимальные характеристики синтеза микрочастиц диаметром от 30 до 45 мкм: концентрация ионов кальция 4.5 wt %, концентрация уксусной кислоты в непрерывной фазе 0.75 vol %. Для микрочастиц из полиакриламида диаметром 20...50 мкм варьировались концентрации инициатора APS от 0.3 до 2.7 %, при этом значительной разницы во времени полимеризации геля обнаружено не было. Основные различия выявлены при изменении температуры среды с 20 до 45 °С, что привело к ускорению сшивки гидрогеля внут-

ри микрочастиц с 3 ч до 20 мин. Для микрочастиц из PEGDA выявлен паразитный эффект диффузии кислорода через капельную оболочку. Уменьшение линейных размеров капель ведет к увеличению отношения площади поверхности капли к её объему, вследствие чего повышается эффективность диффузии кислорода, что, в свою очередь, ингибирует процесс полимеризации геля для эмульсии диаметром менее 100 мкм. Кроме того, для микрочастиц в диапазоне диаметров от 40 до 150 мкм выявлены оптимальные соотношения концентраций фотоинициатора и раствора мономера диспергированной фазы для полимеризации гидрогеля внутри капли. Отдельно рассмотрено влияние геометрии канала и плотности упаковки капель на эффективность полимеризации. Выявлено влияние геометрии канала и плотности упаковки капель на эффективность полимеризации, а именно при более плотной упаковке капель в потоке эффективность полимеризации микрочастиц существенно увеличивается.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 20-74-10117).

Литература

1. Li W. et al. Microfluidic fabrication of microparticles for biomedical applications // *Chem. Soc. Rev.* 2018. Vol. 47, № 15. P. 5646–5683.
2. Ding Y., Howes P. D., deMello A. J. Recent Advances in Droplet Microfluidics // *Anal. Chem.* 2020. Vol. 92, № 1. P. 132–149.
3. Tran V.-T., Benoît J.-P., Venier-Julienne M.-C. Why and how to prepare biodegradable, monodispersed, polymeric microparticles in the field of pharmacy? // *Intern. J. of Pharmaceutics.* 2011. Vol. 407, № 1–2. P. 1–11.
4. Duncanson W. J. et al. Microfluidic synthesis of advanced microparticles for encapsulation and controlled release // *Lab Chip.* 2012. Vol. 12, № 12. P. 2135.

МАЛОМОЩНЫЙ АВТОКОРОНАТОР ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ МИКРОФЛЮИДНЫХ УСТРОЙСТВ

Н. А. Филатов^{1*}, П. С. Плешаков¹, К. В. Дерябин², А. С. Мирошниченко^{1,2,3},
Р. М. Исламова², А. С. Букатин^{1,4}

¹СПбАУ РАН им. Ж. И. Алфёрова, Санкт-Петербург, 194021, ул. Хлопина, д. 8/3

²СПбГУ, Санкт-Петербург, 199034, Университетская наб., д. 7/9

³Университет ИТМО, Санкт-Петербург, 197101, Кронверкский пр., д. 49

⁴Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург, 198095,
ул. Ивана Черных, д. 31-33, лит. А

*nikita.filatov@inbox.ru

Микрофлюидные технологии оказались перспективным и многообещающим инструментом в биотехнологических и химических исследованиях [1]. Тенденция подтверждается современными коммерческими продуктами для детектирования и анализа сверхмалых количеств образца. Например, система QX100/QX200 для капельной цифровой полимеразной цепной реакции (Bio-Rad, USA); технологии Chromium и GemCode от 10X Genomics, Naica system for Crystal Digital PCR (Stilla), и т. д. Помимо биомедицинских приложений также ведутся исследования применения микрофлюидики для производства продуктов питания, био-чернил, косметики, электрооптических приборов, сенсоров, каталитических систем, для жидких кристаллов, микролинз и т. д.

Широко распространенным методом прототипирования в микрофлюидике является изготовление микрофлюидных чипов методом мягкой литографии из полидиметилсилоксана (ПДМС) по предварительно изготовленной мастер-форме. Мастер-форму с микроструктурами, полученную методами фотолитографии, заливают жидким раствором ПДМС. Затем осуществляют дегазацию полимера, устраняя пузырьки растворенного газа. После этого происходит его отверждение при температуре 60 °С в течение 4 ч. Полученные реплики с микроканалами отделяются от мастер-формы, после чего их соединяют со стеклом или другим слоем ПДМС. В результате получается микрофлюидный чип. В общем случае частей/слоев чипа может быть больше двух.

Соединение частей микрофлюидного чипа, как правило, происходит на счет активации их поверхностей путем обработки в кислородной плазме при пониженном давлении – признанный метод создания прочного ковалентного соединения между слоями ПДМС между собой или со стеклом [2]. Однако для этого требуются вакуумно-плазменные установки – обычно громоздкие и дорогостоящие, требующие особых правил работы и наличия баллонов с агрессивными и пожароопасными газами (например, кислород). Для повышения доступности технологий микрофлюидики и снижения стоимости готовых устройств возникает потребность в более простых и экономичных методах и приборах для активации поверхностей ПДМС и стекла. Для этого было предложено заменить обработку кислородной плазмой на коронный разряд. Для этого разработаны ручные компактные приборы, которые хорошо зарекомендовали себя в ходе научных исследований [3], однако процесс осуществляется в ручном режиме, что приводит к плохой воспроизводимости результатов. Поэтому перспективны разработки компактных автоматизированных устройств по обработке поверхностей полимеров и стекол коронными разрядами.

В данной работе было предложено использовать маломощный источник высокого напряжения до 20 кВ с частотой следования пачек импульсов 100±10 Гц, мощностью ≤120 В·А для обработки поверхностей ПДМС и стекла коронными разрядами. Были проведены исследования соединения ПДМС-слоя и ПДМС-слоя или ПДМС-слоя и стекла на испытательной машине Shimadzu EZ-L-5kN universal testing machine на предмет отрыва слоя от слоя после обработки коронными разрядами и после обработки в кислородной плазме на установке Plasma Finish. Результаты исследований показывают, что сила связи ПДМС–

стекло и ПДМС–ПДМС, полученной после обработки коронатором не уступает силе связи после обработки кислородной плазмой в вакуумной камере. Также был разработан прототип автоматизированного устройства по обработке поверхностей полимеров и стекол коронными разрядами на базе такого маломощного генератора (рис. 1). Он безопасен в использовании и не требует подключения агрессивных газов. Автокоронатор прост в использовании и позволяет любому сотруднику после короткого инструктажа изготавливать микрофлюидные устройства из ПДМС. Время обработки поверхностей не превышает 2 мин, после чего можно приступать к следующим шагам производства микрофлюидных устройств или экспериментам. Данный прототип был протестирован в изготовлении нескольких сотен микрофлюидных устройств для проводимых экспериментов по проектам грантов РФФИ и РФФИ.



Рис. 1. Изображение экспериментального прототипа автоматизированного устройства по обработке поверхностей полимеров и стекол коронными разрядами для изготовления микрофлюидных чипов

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия инновациям (грант УМНИК № 17819ГУ/2022).

Литература

1. Matuła, K. Single-cell analysis using droplet microfluidics / K. Matuła, F. Rivello, W. T. S. Huck // *Adv. Biosys.* – 2020. – Vol. 4, № 1. – P. 1900188.
2. Eddings M. A., Johnson M. A., Gale B. K. Determining the optimal PDMS–PDMS bonding technique for microfluidic devices // *Journal of Micromechanics and Microengineering.* – 2008. – Vol. 18, № 6. – P. 067001.
3. Haubert K., Drier T., Beebe D. PDMS bonding by means of a portable, low-cost corona system // *Lab on a Chip.* – 2006. – Vol. 6, № 12. – P. 1548–1549.

МЕТОД ЭКСПРЕСС-ОЦЕНКИ ОТКЛОНЕНИЙ СОСТАВА МОЛОЧНОЙ ПРОДУКЦИИ ОТ ЗАДАННОГО ЭТАЛОНА С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕТОДОВ ИК-СПЕКТРОСКОПИИ

М. Ю. Заневская^{1*}, М. С. Мазинг², А. А. Чередникова², А. Ю. Зайцева²

¹Санкт-Петербургский государственный университет аэрокосмического приборостроения, г. Санкт-Петербург

²Институт аналитического приборостроения РАН, г. Санкт-Петербург, 198095, ул. Ивана Черных, 31-33, лит. А

* mnevskaya1@gmail.com

С распространением явления фальсификации молока появилась необходимость в разработке новых экспресс-методов оценки качества молочной продукции, которые отличаются быстротой и доступностью. Одним из таких методов является спектрофотометрия. Метод основывается на изучении взаимодействия вещества с волнами электромагнитного излучения, длина которых может варьироваться в разных диапазонах: видимого светового спектра – в пределах 350...800 нм, ближнего инфракрасного – 800...2500 нм, среднего инфракрасного – 2500...25000 нм, и т. д. Проходя через вещество, излучение вызывает колебание молекул, которое выражается в большем или меньшем поглощении полученной энергии импульса. [1]

Для решения проблемы контроля качества молочной продукции было проведено исследование с использованием разработанной оптической системы – современного многоканального анализатора спектров, который имеет массив из 18 быстродействующих фоточувствительных элементов и 3 источника излучения. Данные технические характеристики позволяют прибору менее чем за 10 секунд получить данные об образце. [2]

Были изучены 10 видов фермерского молока, среди которых пастеризованное и сырое. Каждый образец заливался в специальную емкость, изготовленную на 3D принтере, черного цвета. Все полученные данные передавались на компьютер для последующей обработки. На первом этапе анализа все данные были стандартизованы методом Z-оценки. Стандартизация данных осуществлялась с целью приведения данных, полученных с каждого датчика, к единому числовому диапазону.

Результатом обработки данных является воспроизводимый «цифровой образ» исследуемого образца в виде комбинации показателей оптических сенсоров.

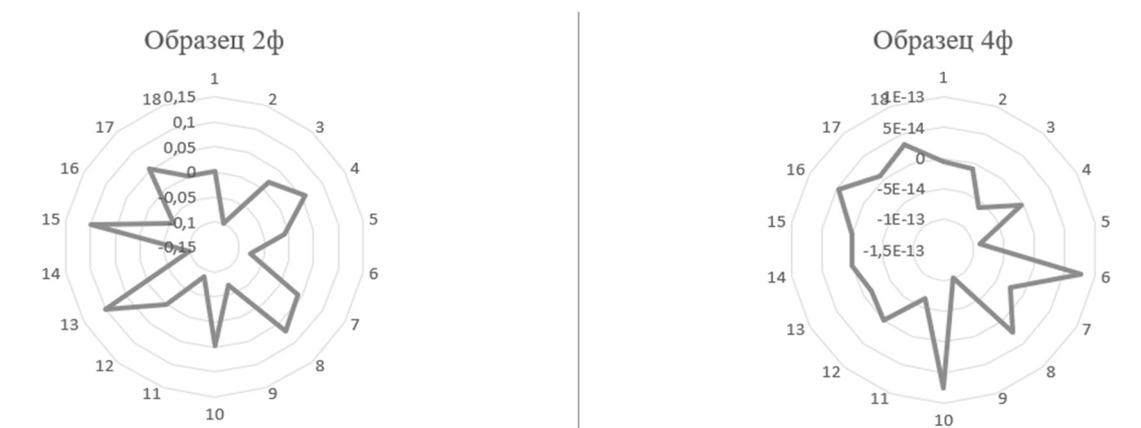


Рис. 1. Цифровые «образы» сырого (образец 2ф) и пастеризованного (образец 4ф) молока

На рис. 1 представлены усредненные по пяти измерениям «цифровые образы» пастеризованного и сырого молока. Очевидно различие в образах, что свидетельствует о разном составе молочной продукции, возможном наличии фальсификаций, вкусовых добавок в молоке.

Таким образом, экспресс-метод инфракрасной спектроскопии дает возможность менее чем за 10 секунд получать «цифровые образы» молочной продукции и позволяет вести учет изменяющихся параметров при сравнении их с эталоном продукции.

Литература

1. Инфракрасная спектроскопия молока / А. Сермягин, Н. Зиновьева, А. Ермилов, И. Янчуков // Животноводство России. 2018. 57 с.
2. Кондаков Н. С., Зайцева А. Ю., Мазинг М. С. Контроль кислородного статуса тканей с использованием мультисенсорной оптической системы // Известия Российской Военно-медицинской академии. 2021. Т. 40, № S1-3. С. 147–151.

ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА С ПОМОЩЬЮ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

А. Г. Кузьмин¹, Ю. А. Титов¹, А. А. Чередникова¹, А. Ю. Зайцева¹, К. С. Бурлака²

¹ФГБУН Институт Аналитического Приборостроения РАН, Россия 190103,
Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31-33

²Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,
г. Санкт-Петербург

*karina.burlaka.2003@mail.ru

В современном мире на здоровье человека оказывают влияние различные факторы окружающей среды, такие как: экология, образ жизни и режим дня. Целью данной работы являются сравнение и обработка масс-спектров выдыхов курсантов и студентов, имеющих различный темп жизни.

Для этой цели ранее был разработан метод диагностики состояния 2 групп людей на основе масс-спектрометрического анализа состава выдыхаемого воздуха. Применение этого метода обеспечивает высокую точность анализа и быстрый результат. Основные достоинства метода заключаются в простоте забора пробы и отсутствии необходимости ее предварительной подготовки [1,2].

В экспериментальном исследовании принимало участие 52 человека, которые были разделены на 2 группы. Первая группа – 31 курсант Военно-медицинской академии в хорошей физической форме. Критерием начала восстановления было отсутствие клинических симптомов заболевания. Вторая – 21 человек, состоящая из студентов в возрасте от 21 до 23 лет. У каждого испытуемого в состоянии физического покоя был произведен забор пробы выдыхаемого воздуха [3].

Испытуемым была предложена специальная техника выдоха: глубокий вдох, задержка дыхания на 10с, медленный выдох в пробозаборное устройство с задействованием нижних отделов дыхательных путей. Данная последовательность действий позволяет получить точную информацию о функциональном состоянии обследуемого, так как в ней участвуют все отделы дыхательной системы [4,5]. Газообмен происходит в альвеолах легких и направлен на захват кислорода из выдыхаемого воздуха и выделение во внешнюю среду углекислого газа и других веществ, образующихся в организме [6].

Для анализа в качестве признаков были выбраны массовых пиков в масс-спектрах с 53 по 70 а.е.м и ближайшие к ним значения. Обработка результатов показала, что в выдохе испытуемых содержатся следующие вещества в определенном соотношении концентраций: ацетон, уксусная кислота и изопрен. В ходе исследования было установлено, что при 53 а.е.м. разница массовых пиков между курсантами и студентами в среднем составляет $2,63E-12$, при 56 а.е.м – $1,93E-12$. При 58 а.э.м в выдохе курсантов содержание веществ на $6,3E-12$ выше, чем у студентов. При 60 а.э.м. содержание веществ в масс-спектрах курсантов больше на $5,26E-12$, а при 67 а.э.м. – на $1,3E-11$. Следовательно, можно сделать вывод о том, что концентрация веществ в выдохах курсантов Военно-медицинской академии превышает показатели студентов, что доказывает преимущество в состоянии здоровья и физической подготовке 1-й группы испытуемых перед 2-й.



Рис 1. Сравнение масс-спектров компонентов выдыхаемого воздуха типичных представителей обеих групп испытуемых. Зеленая линия – курсанты в хорошей физической форме, синяя линия – студенты 4-го курса

Также необходимо отметить, что самочувствие и нормальное функционирование организма человека тесно связаны с его психоэмоциональным состоянием [4]. В процессе исследования был проведен опрос испытуемых об их психологическом фоне и его составляющих: режиме сна, количестве стрессовых ситуаций, физической нагрузке и т. д. Установлено, что у курсантов, ведущих активный образ жизни, соблюдающих режим дня и поддерживающих свой организм в тонусе, эмоциональное состояние является более стабильным, что оказывает оздоровительный эффект и влияет на их качество жизни. В отличие от 1-й группы испытуемых, студенты, имеющие плавающий график, недостаток сна и сильный стресс, претерпевают некоторое отклонение от нормы. Это доказывает, что все процессы организма взаимосвязаны, поэтому крайне важно поддерживать стабильное психоэмоциональное состояние для лучшего качества жизни и здоровья [7,8].

Таким образом, использование предлагаемого метода многомерного статистического анализа для классификации данных масс-спектрометрического анализа состава выдыхаемого воздуха позволяет выявить широкий спектр физиологически значимых компонентов.

Литература

1. Степанов Е. В. Методы высокочувствительного газового анализа молекул-биомаркеров в исследованиях выдыхаемого воздуха. Труды института общей физики им. А. М. Прохорова, 2005, 61. С. 5–47.
2. Di Francescoa F., Fuocob R., Trivellaa M.G., Ceccarinib A. Breath analysis: trends in techniques and clinical applications. *Microchem. J.*, 2005, 79, 405–410. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2004.10.008>.
3. Buszewski B., Kesy M., Ligor T., Amann A. Human exhaled air analytics: biomarkers of diseases. *Biomed. Chromatogr.*, 2007, 21, 553–566. <https://doi.org/10.1002/bmc.835>.
4. Lourenco C., Turner C. Breath Analysis in Disease Diagnosis: Methodological Considerations and Applications. *Metabolites*, 2014, 4, 465–498. <https://doi.org/10.3390/metabo4020465>.
5. Метод масс-спектрометрической экспресс-диагностики по составу выдыхаемого воздуха / А. Г. Кузьмин, Е. И. Ткаченко, Л. С. Орешко, Ю. А. Титов, А. С. Балабанов // Медицинский академический журнал. 2016. № 16(4). С. 106–107.
6. Кузьмин А. Г. Квадрупольный масс-спектрометр. Патент RU 94763 U1. 15.12.09; опубл. 27.05.10. Бюл. № 15.
7. Phillips M. Breath Tests in Medicine. *Sci. Amer.*, 1992, 74–79. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0792-74>.
8. Phillips M., Herrera J., Krishnan S., Zain M., Greenberg J., Cataneo R. N. Variations in volatile organic compounds in the breath of normal humans. *J. Chromatograph. B. Biomed. Sci. Appl.*, 1999, 729(1–2), 75–88. [https://doi.org/10.1016/s0378-4347\(99\)00127-9](https://doi.org/10.1016/s0378-4347(99)00127-9).

Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого

Санкт-Петербургский Политех — один из ведущих технических вузов России, обеспечивающий выпуск инженеров, экономистов, менеджеров по 71 направлению бакалавриата и магистратуры, а также по 27 направлениям аспирантуры.

Университет включает в себя 12 базовых институтов, факультеты дополнительного образования, филиал в городе Сосновый Бор, комплекс научно-исследовательских подразделений

В профессорско-преподавательский состав вуза входит 25 академиков и членов-корреспондентов РАН, свыше 500 профессоров, докторов наук.

В 2021 году вуз вошел в первую группу победителей в треке «Исследовательское лидерство» государственной программы «Приоритет 2030».

Научные исследования в Политехническом университете носят мультидисциплинарный характер и сосредоточены в следующих областях науки, техники и технологий:

- Аддитивные технологии, суперкомпьютерные технологии, космические исследования;
- Ядерная физика, физика плазмы и управляемый термоядерный синтез, радиофизика и электроника;
- Биотехнологии, медицинская физика и техника, физическая химия;
- Физико-технические проблемы энергетики, рациональное использование природных ресурсов;
- Механика, конструкционные материалы, наноматериалы и нанотехнологии;
- Металлургия, машиностроение;
- Вычислительная техника, управление и кибернетика, робототехника;
- Новые производственные технологии, виртуальные полигоны;
- Телекоммуникационные системы, фотоника;
- Экономика и управление народным хозяйством, цифровая экономика, менеджмент.

СПбПУ, 195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, д.29
+7 (812) 775-05-30, 8 (800) 707-18-99
office@spbstu.ru



ИАП РАН

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ АНАЛИТИЧЕСКОГО ПРИБОРОСТРОЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

ИАП РАН – ведущая научно-исследовательская организация в области научного приборостроения, обладает уникальным опытом разработки новых методов и приборов по следующим основным направлениям:

- Методы и приборы диагностики поверхности, элементного и структурного анализа веществ и соединений.
- Методы и приборы нанотехнологии и нанодиагностики. Наноструктуры.
- Методы и приборы для исследований в науках о жизни и медицине. Микро- и наносистемная техника, нанобиотехнология.
- Информационные технологии, системы автоматизации, математическое моделирование в научном приборостроении.

Институт разрабатывает и производит наукоемкое аналитическое оборудование:

- Масс-спектрометры для изотопного, элементного и биоорганического анализа;
- Приборы для ПЦР в реальном времени АНК-32
- Секвенаторы днк серии НАНОФОР®
- Комплекс для выделения нуклеиновых кислот
- Планетарные центрифуги;
- Иммуноанализаторы;
- Анализаторы сортовой принадлежности семян;
- Сенсорные интеллектуальные системы электрохимического анализа, рН-метры;
- Анаэроостаты.

ИАП РАН готов сотрудничать с научными и производственными организациями как в области разработки новых приборов и комплексов, так и в области создания новых методик анализа.



ИАП РАН Санкт-Петербург, 198095, ул. Ивана Черных, 31-33, лит. А.

Почтовый адрес: Санкт-Петербург, 190103, а/я 207

т. (812) 363-0720, ф. (812) 363-0719, e-mail: iap@ianin.spb.su, www.iairas.ru



ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗАТОР НАНОФОР® 05 УСТРОЙСТВО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДНК

Генетический анализатор **НАНОФОР®05** предназначен для автоматического определения последовательности ДНК и для проведения фрагментного анализа ДНК.

НАНОФОР®05 — это высокопроизводительный прибор, способный работать в автоматическом режиме 24 часа в сутки.

ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ

- Медицина
- Санитарно-эпидемиологический контроль
- Сельское хозяйство
- Криминалистика
- Биотехнология
- Фундаментальные исследования в области анализа нуклеиновых кислот



- Открытый
- 8-капиллярный • 7-цветный
- Комплектуется российскими реагентами

НАНОФОР СПС АППАРАТНО-ПРОГРАММНЫЙ КОМПЛЕКС МАССОВОГО ПАРАЛЛЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДНК

Аппаратно-программный комплекс предназначен для быстрой расшифровки полных последовательностей геномов патогенных микроорганизмов (бактерий и вирусов) методом массового параллельного секвенирования для их дальнейшей идентификации.



ПРИБОР НА СТАДИИ ОСВОЕНИЯ СЕРИЙНОГО ПРОИЗВОДСТВА



ИАП РАН Санкт-Петербург, 198095, ул. Ивана Черных, 31-33, лит. А.

Почтовый адрес: Санкт-Петербург, 190103, а/я 207

т. (812) 363-0720, ф. (812) 363-0719, e-mail: iap@ianin.spb.su, www.iairas.ru



Компания СИНТОЛ 127434, г. Москва, ул. Тимирязевская, 42, корпус Б, офис 316

т. (495) 984-69-93 (многоканальный), (495) 506-79-97, ф. (495) 984-69-93, (499) 977-74-55

e-mail: syntol@syntol.ru, www.syntol.ru



АНАЛИЗАТОР НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ АНК-32 НА ОСНОВЕ ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ



БЫСТРЫЙ

(40 циклов ПЦР — менее чем за 1 час)

МНОГОКАНАЛЬНЫЙ

(от 5 до 8 каналов детекции флуоресценции)

ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ

(чувствительность каждого канала — 1×10^{-10} М)

МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ

(ПЦР, плавление, измерение флуоресценции)

- возможность работы с 5-ю парами светофильтров, позволяющими детектировать все основные красители: FAM, R6G, HEX, JOE, TAMRA, ROX, Cy5, Cy5.5, а также SYBR Green I, Eva Green I;
- возможность использования до 8 пар светофильтров, возможность комбинаций фильтров возбуждения и эмиссии для детекции FRET;
- высокая чувствительность по всем каналам детекции обеспечивает высокую точность получаемых результатов и позволяет работать с очень малым количеством зонда (от 0,2 пкмоль на реакцию);
- приборы не требуют калибровки;
- возможность использования тест-систем и наборов реагентов различных производителей.

КОМПЛЕКС ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Комплекс КВНК предназначен для выделения нуклеиновых кислот из различных проб. Использование одноразовых картриджей позволяет ускорить, упростить и повысить безопасность работ с пробами опасных биологических объектов в стационарных и передвижных микробиологических и медицинских лабораториях при проведении генетических исследований

Комплекс КВНК представляет собой комплекс средств (прибор и одноразовые картриджи, заправленные реагентами), обеспечивающий высокоэффективное выделение нуклеиновых кислот в автоматическом режиме под управлением программ, хранящихся в ПЗУ комплекса (до 10 программ). Обеспечена возможность создания новых алгоритмов выделения НК за счет корректировки программ ПЗУ.



ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ

- аналитическая химия;
- биохимия;
- биотехнология;
- фармакология;
- медицина;
- экология.



ИАП РАН Санкт-Петербург, 198095, ул. Ивана Черных, 31-33, лит. А.

Почтовый адрес: Санкт-Петербург, 190103, а/я 207

т. (812) 363-0720, ф. (812) 363-0719, e-mail: iap@ianin.spb.su, www.iairas.ru



СЕНСОРНАЯ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СИСТЕМА ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДЛЯ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

«Электронный язык» - сенсорная система искусственного интеллекта, позволяющая проводить качественное ранжирование жидких сред. В работе «электронного языка» используются электрохимические сенсоры, обладающие чувствительностью к основным значимым компонентам исследуемой среды. Методы машинного обучения применяются в таких системах с целью визуализации и ранжирования, а также для выявления групп жидких сред, схожих по своим свойствам. Анализируя результаты экспериментальных исследований, можно говорить об эффективности применения «электронного языка» для медико-биологических исследований и анализа качественного состава пищевой продукции.



ПЛАНЕТАРНАЯ ЦЕНТРИФУГА



Планетарная центрифуга предназначена:
- для аналитического и препаративного разделения;
- для концентрирования и экстракции органических и неорганических веществ из жидких проб.

ОСОБЕННОСТИ

- возможность выделения целевых компонентов непосредственно из неоднородных, сложных по составу матриц, минуя стадии предварительной очистки и разделения;
- разнообразие используемых двухфазных жидкостных систем;
- легкость перехода от одной распределительной системы к другой;
- высокий выход целевого продукта;
- возможность работы с гетерогенными образцами (взвеси, суспензии).
- срок службы устройства до смены подводящих капилляров в 2-3 раза больше, чем у зарубежных аналогов.

ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ

- аналитическая химия
- фармакология
- биохимия
- биотехнология
- экология



ИАП РАН Санкт-Петербург, 198095, ул. Ивана Черных, 31-33, лит. А.

Почтовый адрес: Санкт-Петербург, 190103, а/я 207

т. (812) 363-0720, ф. (812) 363-0719, e-mail: iap@ianin.spb.su, www.iairas.ru



КВАДРУПОЛЬНЫЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТР ДЛЯ АНАЛИЗА СОСТАВА ГАЗОВЫХ СМЕСЕЙ «АРОМАСС-2»

Квадрупольный масс-спектрометр «АРОМАСС-2» предназначен для анализа молекулярного состава газовых смесей при атмосферном давлении в режиме реального времени.

ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ

- Медицина
- Биология
- Экология
- Геология
- Санитарно-эпидемиологический мониторинг.
- Промышленность
- Производство особо чистых газов (контроль состава примесей).

ПРЕИМУЩЕСТВА

- высокая чувствительность анализа по примесям - до **0,01 ppm (мг/м³)**;
- возможность оперативной неинвазивной диагностики состояния здоровья пациентов;
- одновременное измерение в режиме реального времени концентраций различных примесей в атмосфере и газовых смесях;
- возможность использования в передвижных лабораториях для оперативного контроля;
- **прибор не требует расходных материалов;**
- **прибор не имеет отечественных аналогов.**
- Конструктивное исполнение масс-спектрометра, его малые габариты и вес позволяют использовать прибор в передвижных контрольно-аналитических лабораториях.



АНАЭРОСТАТ АЭ-01

Анаэростат АЭ-01 предназначен для культивирования в чашках Петри микроорганизмов группы облигатных анаэробов (бактероидов) и микроаэрофилов (кампилобактеров).

ОСНОВНЫЕ ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Рабочий объем, л	3
Максимальное количество стеклянных чашек Петри, одновременно помещаемых в АЭ-01, шт.	10
Максимальное количество пластмассовых чашек Петри, одновременно помещаемых в АЭ-01, шт.	15
Габаритные размеры: высота; диаметр не более, мм	320; 190
Масса не более, кг	1.5

ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ

Культивирование микроорганизмов в анаэробных и микроаэрофильных условиях в лабораториях центров гигиены и эпидемиологии, лабораториях лечебно-профилактических учреждений и научно-исследовательских институтов.



ИАП РАН Санкт-Петербург, 198095, ул. Ивана Черных, 31-33, лит. А.

Почтовый адрес: Санкт-Петербург, 190103, а/я 207

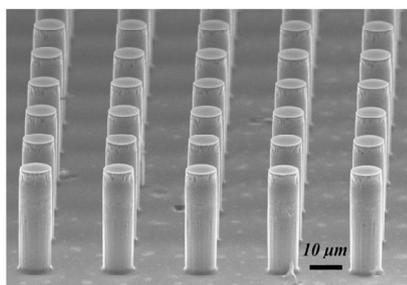
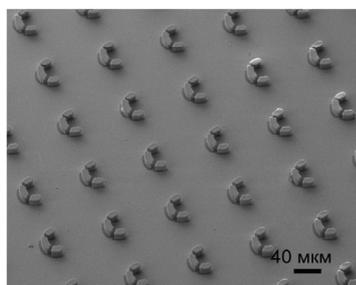
т. (812) 363-0720, ф. (812) 363-0719, e-mail: iap@ianin.spb.su, www.iairas.ru



КРЕМНИЕВЫЕ МАСТЕР - ФОРМЫ для изготовления микрофлюидных чипов из PDMS

ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Размеры чипов до 50x75 мм
- Глубина микроканалов 1 – 200 мкм
- Ширина каналов от 2 мкм
- Многослойный дизайн каналов
- Интеграция пневматических клапанов, микроэлектродов, микролазеров и др.



N.A. Besedina et al. *Commun Biol*, 5, 659 (2022). DOI:10.1038/s42003-022-03620-52022

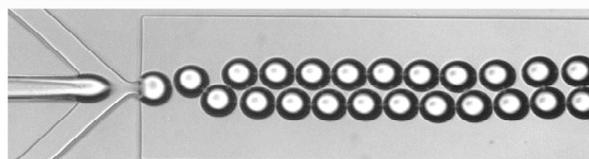
МИКРОФЛЮИДНЫЙ КОНТРОЛЛЕР ДАВЛЕНИЙ для ввода жидкостей в микрофлюидные устройства

- 4 канала давления:
0 – 100 кПа или 0 – 500 кПа
- Вакуум до –90 кПа
- Электромагнитные реле для подключения внешних устройств
- Цифровые протоколы I2C и UART
- Аналоговые входы
- Цифровые входы/выходы



ОСНОВНЫЕ ПРИМЕНЕНИЯ

- Капельная микрофлюидика
- Синтез липосом и наночастиц
- Цифровая капельная ПЦР



N. Filatov et al. *IEEE Tr. on Instr. and Meas.*, 2022, DOI: 10.1109/TIM.2022.3158383



Подписано в печать 05.12.22. Формат 60×84 1/16.
Бумага офсетная. Печать цифровая. Печ. л. 4,25.
Гарнитура «Times New Roman». Тираж 50 экз. Заказ 163.

Отпечатано с готового оригинал-макета
Издательство СПбГЭТУ «ЛЭТИ»
197022, С.-Петербург, ул. Проф. Попова, 5Ф